

THÈSE

PRÉSENTÉE A

LA FACULTE DES SCIENCES DE NANTES

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE NANTES
(MENTION SCIENCES)

par

Jean MOREAU

**Contribution aux recherches écologiques
sur les claires à huîtres du bassin de Marennes-Oléron**

Soutenue le 10 février 1971 devant la Commission d'Examen

M. SAUDRAY, *Président*

Mme NICOLAS-PRAT }
M. MAURIN } *Assesseurs*

M. DE LARAMBERGUE, *Invité*

NANTES

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PÊCHES MARITIMES
La Noë — Route de la Jonelière

1970

THÈSE

PRÉSENTÉE A

LA FACULTE DES SCIENCES DE NANTES

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE NANTES
(MENTION SCIENCES)

par

Jean MOREAU

Contribution aux recherches écologiques sur les claires à huîtres du bassin de Marennes-Oléron

Soutenue le 10 février 1971 devant la Commission d'Examen

M. SAUDRAY, *Président*

Mme NICOLAS-PRAT }
M. MAURIN } *Assesseurs*

M. DE LARAMBERGUE, *Invité*

NANTES

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PÊCHES MARITIMES

La Noë — Route de la Jonelière

1970

THESE

LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE NANTES



FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE NANTES

Président du Conseil Transitoire de Gestion, Chargé des fonctions de Doyen M. AVIGNON

PROFESSEURS

MM. PAUC : Mathématiques.
RAFFIN : Mécanique rationnelle.
GARRIGUES : Biologie végétale.
BRILLOUET : Analyse numérique.
DUNOYER DE SEGONZAC : Chimie.
GRAFF : Chimie.
COLLET : Physique.
BOULLOUD (C.S.U.) : Physique.
Mlle DEBRAUX : Botanique.

MM. PETRESCO : Mathématiques.
PIERI : Biologie animale.
WOJTKOWIAK : Chimie.
MOLINARO : Mathématiques.
SELLIER : Zoologie.
LE DOUARIN : Biologie.
MOUTON : Physique.
MINN : Physique.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. CAVET : Sciences de la Terre.
OTTMANN : Sciences de la Terre.
DUPONT : Biologie végétale.
ROUXEL : Chimie.
QUINIOL : Chimie.

MM. LASKAR : Physique.
GOUREAUX : Physique.
MARTIN : Chimie.
SAUDRAY : Biologie animale.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. FORESTIER : Sciences de la Terre.
NICOLAS : Sciences de la Terre.
Mme LE DOUARIN : Biologie végétale.
MM. TOURNIOUX : Chimie minérale.
AMOURIQ : Psychophysiologie.
Mlle ASTIE (C.S.U.) : Botanique.
MM. GOUIN (C.S.U.) : Chimie.
BARDON : Physique.
REMY (C.S.U.) : Chimie.
CHABANNEL : Chimie.
LONCKE : Physique.

MM. FOUQUES : Mathématiques.
LEYCURAS (C.S.U.) : Physique.
Mme MARTIN : Chimie.
MM. LEBRUN : Biologie.
MATZ (C.S.U.) : Biologie.
LEBORGNE : Mathématiques.
LE BIHAN : Physique.
IBISCH : Mathématiques.
Mme NICOLAS : Biologie.
M. ROSIER : Physique.

Secrétaire de la Faculté M. PAILLET, Attaché Principal

**CONTRIBUTION AUX RECHERCHES ECOLOGIQUES
SUR LES CLAIRES A HUITRES
DU BASSIN DE MARENNES-OLERON**

par Jean MOREAU

*« Il faut croire que l'on est doué pour quelque chose
et que cette chose il faut donc l'atteindre coûte que coûte »*

Marie CURIE, 1894

CONTRIBUTION AUX RECHERCHES ECOLOGIQUES SUR LES CLAIRES A HUITRES DU BASSIN DE MARENNES-OLERON

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS	9
INTRODUCTION	11
CHAPITRE I. — LE BASSIN DE MARENNES-OLERON ET L'IMPORTANCE DES CLAIRES A HUITRES	11
CHAPITRE II. — TRAVAUX ANTERIEURS, INTRODUCTION AUX PRESENTES RECHERCHES ..	14
CHAPITRE III. — METHODES ET TECHNIQUES	18
I. — Prélèvements des eaux et des vases	18
II. — Techniques d'analyses	19
1° Détermination de l'oxygène dissous et de la productivité primaire	20
2° Analyses colorimétrique et spectrophotométrique des pigments	22
3° Analyses spectrophotométriques des hydrates de carbone dissous et particuliers	26
4° Analyses spectrophotométriques des phosphates inorganiques dissous	29
5° Analyse complexométrique du calcium et du magnésium dissous	30
6° Techniques diverses utilisées	30
III. — Examens biologiques et microscopiques	31
<i>Conclusion</i>	33
CHAPITRE IV. — ETUDES ET RECHERCHES SUR LES CLAIRES A HUITRES DU BASSIN DE MARENNES-OLERON	33
I. — Les claires et leur réseau d'alimentation	35
II. — Le substrat et les sols des claires	35
III. — La dynamique des claires	38
1° Physico-chimie des eaux des claires	38
2° Bio-chimie des eaux des claires	39
IV. — Etude bionomique des claires et le verdissement	42
1° La flore benthique et planctonique	42
2° La faune des claires	46
<i>Résumé et conclusion</i>	47

CHAPITRE V. — LA NAVICULE DES HUITRES ET SA PIGMENTATION	48
I. — Place dans la systématique botanique et description des <i>N. ostrearia</i>	48
II. — Evolution morphologique de <i>N. ostrearia</i> et de ses pigments. Son cycle évolutif dans les claires à huitres	50
III. — Essai de recherches fondamentales spectrophotométriques sur le complexe pigmentaire de <i>N. ostrearia</i>	52
Résumé et conclusion	55
CHAPITRE VI. — LE VERDISSEMENT DANS LES CLAIRES A HUITRES	56
I. — Pigmentation de <i>N. ostrearia</i> dans les claires	56
II. — Evolution des pigments des claires en rapport avec la présence et la pigmentation de <i>N. ostrearia</i>	57
1° Recherches cinématiques comparatives de l'évolution des pigments dans les claires	57
2° Recherches sur les rapports entre le verdissement et les pigments des claires	59
3° Recherches complémentaires sur le verdissement et l'évolution corrélative des chlorophylles a et c	62
III. — Relation entre le verdissement et les substances hydro-carbonées	66
1° Recherches préliminaires	66
2° Recherches sur les hydrates de carbone particuliers de la couche superficielle des vases et sur leur relation avec la teneur en chlorophylles	67
3° Observations complémentaires	72
Résumé et conclusion	73
CHAPITRE VII. — CONDITIONS ET FACTEURS DE VERDISSEMENT DE L'HUITRE EN CLAIRE	73
I. — Productivité et verdissement	73
1° Rôle du phosphate	73
2° Productivité biologique des claires	76
II. — Action des divers facteurs physico-chimiques, mécaniques et météorologiques	78
Données complémentaires	83
Résumé et conclusion	84
RESUME GENERAL	84
BIBLIOGRAPHIE	87

AVANT-PROPOS

Les recherches présentées dans ce mémoire ont été menées au laboratoire de l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes de La Tremblade implanté au centre d'une importante région ostréicole et placé alors sous la direction de M. TROCHON. Nous ne manquerons pas de le remercier de l'aide qu'il nous a apportée en nous accordant, surtout au milieu des diverses obligations du service, le temps précieux nécessaire à l'élaboration, à l'exécution et à l'interprétation de nos recherches.

M. FURNESTIN, Directeur de l'Institut jusqu'en 1969, comprit et encouragea nos travaux et nous accorda dès 1964 des moyens supplémentaires indispensables sans lesquels notre tâche n'aurait pu s'accomplir. Nous voulons lui exprimer ici notre gratitude et nous associons à nos remerciements M. LETACONNOUX, alors Chef de service, ainsi que M. DARDIGNAC, dont nous avons apprécié les conseils.

Ces recherches ont d'abord été engagées avec M. le Professeur DASTE de la Faculté des Sciences de Poitiers. Nous ne saurions oublier qu'il nous a prodigué des conseils dont nous lui sommes très reconnaissant. Nous devons aussi des remerciements à M. le Professeur DUPUIS (pédologie) de la même faculté, qui a bien voulu suivre une première rédaction et nous accordons une affectueuse reconnaissance à M. le Professeur DE LARAMBERGUE (zoologie) dont nous avons été autrefois l'élève, pour tous les conseils et les encouragements qu'il manifesta à notre égard, particulièrement dès le début de ces recherches.

La décentralisation de l'I.S.T.P.M. de Paris à Nantes coïncidant avec la promotion de M. MAURIN à la Direction de notre Institut de recherches fut pour nous, l'occasion de solliciter son concours. M. le Professeur SAUDRAY de la Faculté des Sciences de Nantes (biologie marine) voulut bien prendre la charge et la responsabilité de ce mémoire. L'un et l'autre acceptèrent avec une grande sollicitude non dénuée d'une remarquable objectivité, de revoir l'ensemble de nos travaux. A eux se joignit Mme le Professeur NICOLAS-PRAT, spécialiste de physiologie végétale. Leurs critiques, leurs remarques de tous ordres en rapport avec le travail que nous leur demandions furent empreints de conseils particulièrement riches d'enseignements qui nous permirent une rédaction conforme à la vérité scientifique et adaptée aux nécessités de l'édition dans notre Revue des Travaux, principale publication de notre Institut.

M. le Professeur SAUDRAY a bien voulu accepter la Présidence du Jury de Thèse. Nous lui exprimons notre gratitude ainsi qu'à Mme le Professeur NICOLAS-PRAT qui a accepté d'y participer. D'ailleurs nos recherches, prenant pour thèmes principaux diverses questions de biologie végétale, sont inséparables du biotope particulier que nous avons étudié. Dans ce contexte nous voudrions nous permettre d'insister sur tout l'intérêt porté par M. MAURIN sur les problèmes et dont nous avons pu nous rendre compte dès 1957 au cours de campagnes océanographiques méditerranéennes. Ses titres autant que ses fonctions le désignaient tout naturellement pour appartenir à notre Jury. En acceptant, c'est un particulier honneur qu'il nous accorde; en retour c'est un gage de fidélité que nous voudrions lui exprimer ici.

M. le Professeur DE LARAMBERGUE a bien voulu accepter l'invitation qui lui a été faite, de faire partie de notre Jury. Il témoigne par là, au-delà de notre personne, tout l'intérêt qu'il porte à notre Institut et particulièrement à son développement dans une région si attachante et si riche d'avenir. Qu'il en soit tout spécialement remercié.

INTRODUCTION

Déjà connue et appréciée des Romains, l'huître de nos côtes atlantiques d'alors, ou *Ostrea edulis* L., entra véritablement dans la gastronomie de la Gaule vers 350 après J.-C.

L'histoire de ce mollusque en France a été fort bien retracée par HERVÉ en 1935.

Peu à peu au cours des siècles, et surtout de ce dernier, la pêche des gisements naturels fut réglementée, l'élevage s'organisa avec l'expérience. Enfin le contrôle sanitaire indispensable fut institué puis la recherche scientifique prit son essor dans le cadre de l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes.

Chacun connaît l'aventure du cargo réfugié en Gironde qui, revenant du Portugal en 1868, se délesta de ses *Crassostrea angulata* LMK qui peuplèrent rapidement les côtes françaises du sud de la Loire en prenant la place d'*Ostrea edulis*, moins compétitive. De nos jours, et sur des bases scientifiques devenues de plus en plus nécessaires pour l'ostréiculture, s'amorce un nouveau peuplement que l'on peut espérer bénéfique par *Crassostrea gigas* TH. en provenance du Japon.

Parallèlement à cette succession d'acclimations au milieu de diverses vicissitudes notamment sur les côtes d'Aunis, l'installation d'abord précaire de « réservoirs à huîtres » à la place d'anciens marais salants désaffectés favorisa, il n'y a guère plus d'un siècle et demi, l'apparition de cette teinte verte sur les branchies des huîtres c'est-à-dire ce phénomène dénommé « verdissement » qui intrigua d'abord bien des curieux puis fit l'objet d'études nombreuses et méritantes pour leur époque. Les huîtres vertes élevées dans ces réservoirs dès lors appelés « claires » firent progressivement la richesse de la région et le bassin de Marennes-Oléron devint le berceau d'une industrie artisanale très prospère. Désormais le verdissement inséparable des claires fait partie des techniques d'affinage de l'huître et complète la phase d'engraissement en donnant à ce mollusque une qualité réputée incomparable.

CHAPITRE I

LE BASSIN DE MARENNES-OLÉRON ET L'IMPORTANCE DES CLAIRES A HUITRES

Le verdissement de l'huître en claire mérite d'abord une définition sommaire. Il s'agit essentiellement d'un caractère acquis sous l'influence de conditions de milieu très variées. Ce phénomène s'accompagne obligatoirement de la prolifération d'une diatomée, *Navicula ostrearia* B. qui a la propriété exceptionnelle de produire un pigment soluble dans l'eau de mer. Celui-ci est fixé électivement par les branchies, parfois également par les palpes de l'huître qui se colorent d'une teinte verte plus ou moins foncée (RANSON, 1925 à 1927). Outre une belle présentation, ce pigment confère à l'huître des qualités gustatives appréciées ce qui suggère, d'emblée, l'importance économique de ce phénomène biologique brièvement défini.

Les travaux exposés dans ce mémoire ont donc pour objets principaux des recherches particulières sur la diatomée agent causal du verdissement, et surtout une étude et la recherche des facteurs divers qui provoquent *in situ* la pigmentation de cet organisme végétal, ce qui suppose la connaissance du milieu où il se développe.

Nous exposerons successivement les travaux antérieurs, les techniques que nous avons utilisées et les diverses expérimentations et recherches que nous avons effectuées. Auparavant, une descrip-

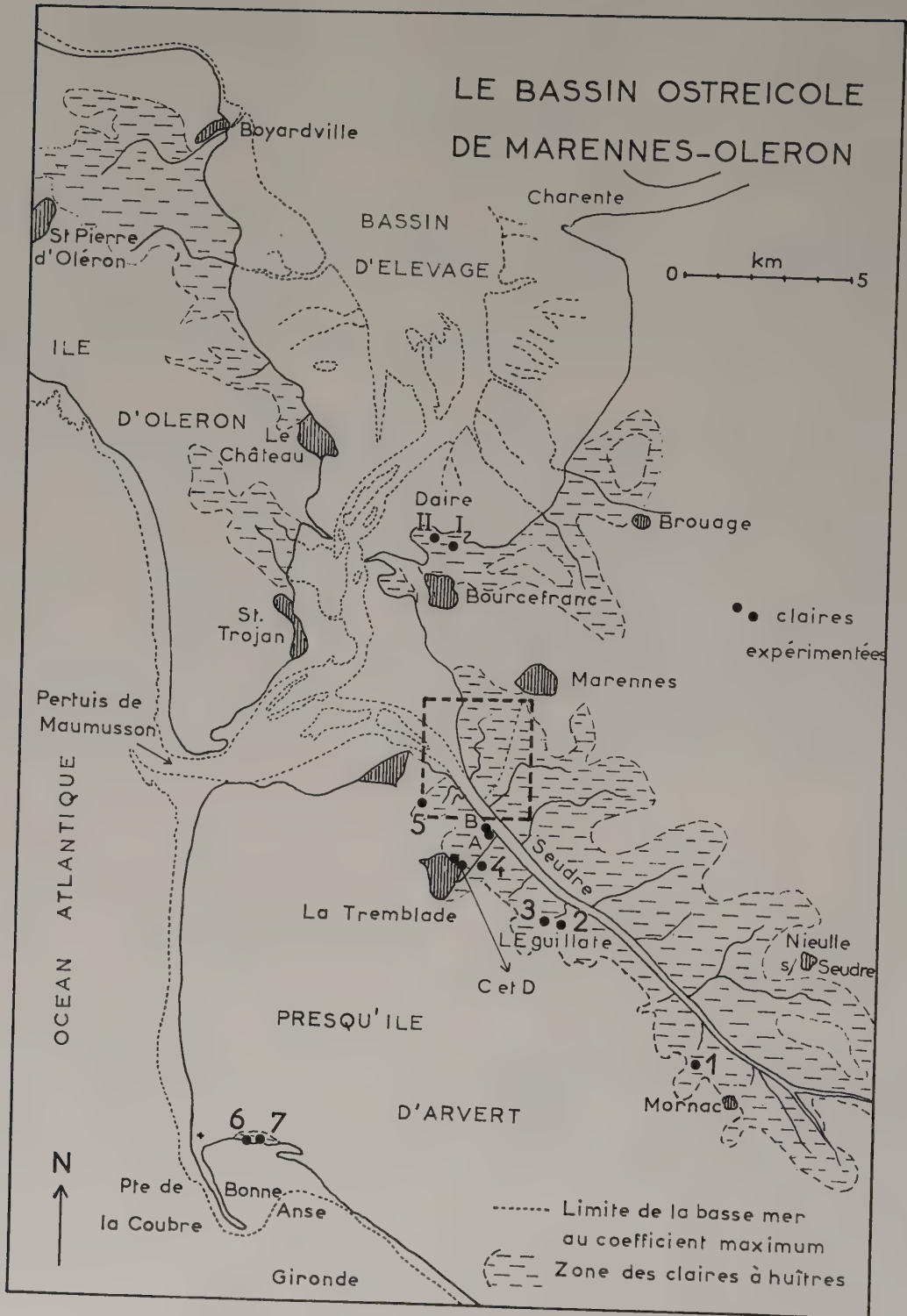


FIG. 1. — Le bassin ostréicole de Marennes-Oléron d'après cartes I.G.N.

tion du bassin de Marennes-Oléron et de la région étudiée s'impose afin de préciser l'étendue des claires dans la zone ostréicole, leur productivité et leur rôle économique, et par là même d'explicitier l'importance des recherches entreprises dans ce domaine très particulier de la biologie marine appliquée.

Marennes, ancienne sous-préfecture au centre de la région ostréicole continentale, a donné son nom à une qualité d'huître bien connue. L'île d'Oléron avec la baie qu'elle délimite constitue le bassin dit de Marennes-Oléron, région de 20 km du nord au sud sur 12 km d'est en ouest dont l'unité n'est qu'apparente (fig. 1). En effet sur le seul domaine public maritime de plus de 3 000 ha, dont une vaste partie émerge aux grandes marées, sont établis les parcs d'élevage, soit sur le sol lorsque celui-ci est suffisamment dur, soit en casiers surélevés dans les régions à trop forte accumulation de vase. Les claires sont pour la plupart établies sur le domaine privé et la description précise en sera faite plus loin. Retenons pour l'essentiel trois régions importantes, chacune divisée en prises nombreuses qu'alimentent des chenaux subdivisés en « ruissons ». Le long de la Seudre, beaucoup plus hydrologiquement bras de mer que fleuve, les claires s'étendent de part et d'autre, côté Marennes ou La Tremblade, sur une dizaine de kilomètres ; sur la côte continentale toujours, mais plus au nord, les claires sont réparties de Bourcefranc jusqu'au-delà de la cité fortifiée de Brouage ; enfin l'île d'Oléron, de St-Trojan à Boyardville en passant par l'important centre ostréicole du Château d'Oléron, groupe un nombre important de claires à huîtres. Signalons enfin un petit nombre de celles-ci à Bonne-Anse, c'est-à-dire à l'entrée de la Gironde, lesquelles situées dans un lieu à part ont un intérêt scientifique évident.

La superficie totale des claires est difficile à établir ; elle atteindrait, selon certaines estimations, la moitié de la partie totale exploitable du bassin. La figure 1 en donne une vue d'ensemble. Les claires alternent parfois avec des zones marécageuses inexploitées car souvent trop élevées par rapport aux eaux marines ; c'est le cas de la rive droite de la Seudre et de la région de Brouage. Mais le bassin d'élevage n'est pas lui-même continu comme en témoigne la limite de la basse mer au coefficient maximum.

Si l'on compte, selon les évaluations les plus objectives, que le bassin de Marennes-Oléron produit au moins 60 % des huîtres consommées en France, si l'on envisage l'étendue relative des zones à collecteurs, des parcs d'élevage et des claires à verdissement, si enfin on ne perd pas de vue que de plus en plus toutes les huîtres passent un temps appréciable dans les claires, d'une saison à quelques semaines, on comprend mieux l'importance économique exceptionnelle des claires à huîtres dans cette région et leur remarquable intérêt sur le plan ostréicole.

Bien sûr, il est juste de noter (MOREAU et TROCHON, 1964) l'existence dans le bassin de bouchots à moules en quantité modeste (à l'embouchure et au sud de la Charente ainsi qu'au nord et à l'E-NE de l'île d'Oléron), mais la présence de ces mollusques compétiteurs pour l'huître est biologiquement illogique ; elle rétrécit d'autant cette région à vocation ostréicole peu ouverte sur l'océan en diminuant ses potentialités de rendement.

Dans ce bassin surpeuplé en populations malacologiques actives l'accumulation de vase atteint un niveau dangereux, d'autant que la floculation des particules provenant des eaux d'estuaire au contact des eaux marines, leur entraînement vers la mer par les eaux pluviales et la submersion des claires et des chenaux dont les fonds s'exhaussent sans cesse, réduisent lentement l'espace vital nécessaire à une bonne exploitation. Par voie de conséquence, les recherches faites sur les claires, si poussées soient-elles, ont une grande part de valeur locale, les eaux qui les alimentent étant tributaires de la qualité de celles du bassin. C'est pourquoi il nous est apparu nécessaire de dresser un tableau d'ensemble de la région car l'uniformité des processus de verdissement ne saurait accorder à l'ensemble des claires du bassin une entité absolue et indépendante.

Les claires à huîtres constituent donc la particularité essentielle du bassin de Marennes-Oléron dont nous venons d'esquisser les aspects majeurs. Remarquablement abrité par l'île d'Oléron, entre la Charente et la Gironde, il recèle en ses claires d'immenses possibilités de recherche scientifique dont les moindres ne sont pas celles portant sur sa célèbre navicule et le phénomène biologique particulier qu'elle entraîne.

TRAVAUX ANTERIEURS, INTRODUCTION AUX PRESENTES RECHERCHES

Le champ remarquable d'expérimentation constitué par les claires du bassin de Marennes-Oléron a été, quant au verdissement, l'objet de recherches nombreuses comme il a été dit dans l'introduction.

SPRAT fit le premier, en 1669, la relation entre la pigmentation du fond et celle des huîtres entreposées en bassins. Il découvrit, dès cette époque, ce que nous appelons le verdissement de l'huître, mais il fallut attendre beaucoup plus tard pour avoir des précisions. En 1820 et 1824 GAILLON expliqua la coutume française de placer les huîtres dans de grands réservoirs appelés « claires » (du latin *clarus* qui évoque la lumière donc la limpidité de l'eau qui caractérise généralement une claire qui verdit intensément). Ce même auteur décrivit la coloration verte qu'acquière les huîtres placées en bassins et il observa qu'elle se localisait particulièrement dans les branchies. Il détermina l'agent de ce phénomène qu'il appela *Vibrio ostrearia* organisme végétal fusiforme d'une longueur de 100 μ environ, placé depuis dans le genre *Navicula* par BORY de ST-VINCENT (1823). GAILLON remarqua que le verdissement, caractère acquis, pouvait disparaître après trois ou quatre semaines dans une eau de mer normale, mais il ne put expliquer comment la substance verte supposée émise par cette diatomée atteignait les branchies. En 1824 s'apercevant que les intestins et le foie peuvent être colorés en vert il en déduisit que la matière colorante était absorbée.

En 1841, VALENCIENNES en accord avec GAILLON attira l'attention sur le fait que « non seulement les branchies et les palpes mais aussi le foie et les intestins peuvent montrer une teinte verte ». Cet auteur fit des recherches sur la chimie du pigment et conclut que les réactifs qui le dissolvaient le détruisaient immédiatement. Cependant il établissait que ce pigment n'avait aucun rapport « avec quelque élément métallique » comme le cuivre. Il persista néanmoins à attribuer le verdissement à une maladie du foie des huîtres !

MITCHELL et BARNEY (1915-16, 1918) ont cité plusieurs auteurs de la fin de ce 19^e siècle : COSTE (1861) pensa, à l'encontre de VALENCIENNES, que la pigmentation était due aux sels de fer ou de cuivre du sol des claires ; SULLIVAN (1870) démentit cette affirmation ; RAY-LANKESTER (1886) cité par les mêmes auteurs démontra que les huîtres absorbent des navicules, et que le pigment provient de ces organismes. Il supposa un mécanisme d'ingestion par l'huître après avoir trouvé des frustules de diatomées dans les intestins. Enfin pour la première fois, cet auteur eut le mérite de se pencher sur l'histologie de la branchie. Il décrivit en outre la navicule qu'il appela *Navicula fusiformis* var. *ostrearia* et dénomma *marennine* le pigment produit par cette Algue unicellulaire.

HERDMANN (1896) puis BOYCE (1897) en Angleterre où le phénomène était très sporadique attirèrent l'attention sur le fait que les huîtres verdies au cuivre et celles pigmentées par la marennine étaient deux anomalies différentes. Nous savons en effet aujourd'hui que l'excès de cuivre provoque une « leucocytose » due à un trouble du métabolisme.

Le 20^e siècle n'apporta pas tout de suite beaucoup d'explications.

En 1907 SAUVAGEAU cite CARAZZI qui prétendit établir que la diatomée n'est pour rien dans le verdissement, celui-ci étant dû uniquement à l'action du terrain. SAUVAGEAU fit des expériences simples avec des huîtres blanches et de l'eau de mer contenant ou non le pigment et prouva que les affirmations de CARAZZI étaient erronées. Ce dernier revint sur ses précédentes affirmations, des observations histologiques dignes d'intérêt et qui seront reprises plus tard, lui ayant prouvé le rôle de la diatomée et du pigment émis.

Ultérieurement CALVET (1909, 1910) discuta des conditions de verdissement des huîtres et, comme d'autres auteurs qui l'avaient précédé, attacha une certaine importance à la température, à la profondeur, à la nature du fond mais aussi et pour la première fois aux effets éventuels de la lumière. Par ailleurs, il crut trouver une excellente application pratique en démontrant après de nombreux essais que *Navicula ostrearia* « se conserve parfaitement » dans l'eau intervalvaire des huîtres transportées « permettant leur ensemencement » sur des terrains d'autres régions : l'étang de Thau par exemple.

Ce n'est qu'en 1918 que parut une note relatant un important travail effectué aux U.S.A. par MITCHELL et BARNEY (1915-16, 1918) à la suite de l'apparition fugace de *Navicula ostrearia* dans la baie de Chesapeake en Virginie. En 1915-1916, ces auteurs observèrent le verdissement sur leurs huîtres (*Crassostrea virginica* GMELIN) « green-gilled oysters similar tho those of Marennes ». Ils prouvèrent sans difficulté la présence de *N. ostrearia* et son rôle dans la coloration des branchies. En Virginie, l'apparition soudaine de cette diatomée particulière était une « épidémie » sans précédent et qui fût d'ailleurs sans lendemain comme nous l'a prouvé une enquête personnelle ⁽¹⁾. Les auteurs se livrèrent à des études du milieu en envisageant les données océanographiques classiques prises alors en considération : température, salinité... Ils décrivirent *N. ostrearia* et mirent en évidence, pour la première fois, « diverses variations de la pression osmotique ». Ces chercheurs réussirent à faire verdifier une huître blanche placée dans de l'eau de mer aérée contenant *N. ostrearia*. Ils tentèrent même de faire développer la branchie verte dans une huître blanche normale. Par contre ils prétendirent que le pigment était insoluble dans l'eau. En outre, pour eux, celui-ci n'avait pas de rapport avec le carotène. Le sérieux des travaux de MITCHELL et BARNEY, les résultats obtenus montrent un tournant dans l'histoire des recherches sur le verdissement par *N. ostrearia*. On a quelques raisons aujourd'hui de s'étonner qu'en 1927 RANSON ne jugeât bon de rappeler qu'en quelques lignes ces recherches alors les plus importantes sur la question.

Nous ne manquerons pas de préciser l'essentiel des travaux de RANSON qui consacra des années de recherches à la question du verdissement dans les claires du bassin de Marennes-Oléron.

Dès 1925, RANSON remarque que, privée de son estomac, une huître peut vivre encore trois jours. Il pratique l'ablation de cet organe après avoir scié partiellement la valve supérieure du mollusque sans léser ni le muscle adducteur ni les tissus sous-jacents. Placée ainsi dans une eau préalablement pigmentée par *N. ostrearia* les branchies verdissent fortement après 24 heures. Il y a donc pénétration directe du pigment dans les branchies. L'important mémoire de l'auteur paru en 1927 et axé sur un sujet plus vaste rappelle cette expérience et en précise une autre : l'huître préparée comme il a été indiqué ci-dessus est placée de telle manière que seules les branchies trempent dans l'eau pigmentée par *N. ostrearia*. L'huître verdit alors en peu de temps ce qui confirme cette absorption directe par les tissus branchiaux.

Navicula ostrearia est donc, incontestablement, à l'origine du verdissement de l'huître. Mais RANSON est allé plus loin et considérant l'importance de la population malacologique dans les claires il a présenté des conclusions qui, malheureusement, ne reposent que sur trop peu de faits expérimentaux. Pour lui *N. ostrearia* est « normalement planctonique et dépigmentée », « elle devient benthique par chimiotactisme lorsque sur le fond se trouve un sucre », ce dernier provient du mucus des huîtres le plus généralement mais « peut provenir des algues-support lorsque *N. ostrearia* vit en épiphyte ». Il considère de plus que le pigment est un produit du métabolisme des sucres et ayant pour support une substance grasse mal définie mais qui, d'après lui, confère au pigment sa solubilité, la substance pigmentée serait « de constitution lipo-protéique ayant les caractéristiques des caroténoïdes ».

Ainsi la pigmentation de la navicule serait intimement liée à la présence des huîtres et la marenne « résulterait d'une modification de l'endochrome » (que nous préférons appeler chloroplaste) qui, dit-il, se réduit. Notons que plus tard en 1936 RANSON affirme que les endochromes ne se modifient pas.

Enfin toujours dans ses recherches publiées en 1927 RANSON, employant la méthode indiquée par CARAZZI (1897) se reporte à sa coupe transversale d'un filament branchial (fig. 2) et il effectue une coupe dans un pli de la face interne d'un palpe. Avec ses observations, en accord avec RAY-LANKESTER (1886) qui avait déjà fait les mêmes, RANSON a confirmé la localisation du pigment dans les amibocytes. En outre il a précisé la présence dans « la partie distale du protoplasma épithélial » de fines granulations vertes incluses dans une masse plus légèrement colorée. Cette pigmentation est en rapport direct avec la présence de *N. ostrearia* et RANSON l'a formellement confirmé. Cela suffit, nous semble-t-il, pour justifier notre citation sur cette question d'histologie.

(1) Communication personnelle de James B. ENGLE, chief bureau of commercial fisheries Shellfish advisory service, Oxford, Maryland, U.S.A. (le 21 février 1966).

Dès après les travaux de RANSON, (1932 à 1936) BACHRACH et certains collaborateurs de la Faculté des Sciences de Lyon s'intéressèrent au problème du verdissement car c'était devenu un problème tant il est vrai que la recherche appelle d'autres recherches et fait apparaître de nouvelles questions.

En 1932 dans le cadre de recherches *in vitro* BACHRACH, LEFÈVRE et ROCHE ont signalé que dans certaines conditions expérimentales *N. ostrearia* peut perdre la silice de ses frustules. Cette perte pour les auteurs semble aller de pair avec une « diminution de synthèse de la chlorophylle c ».

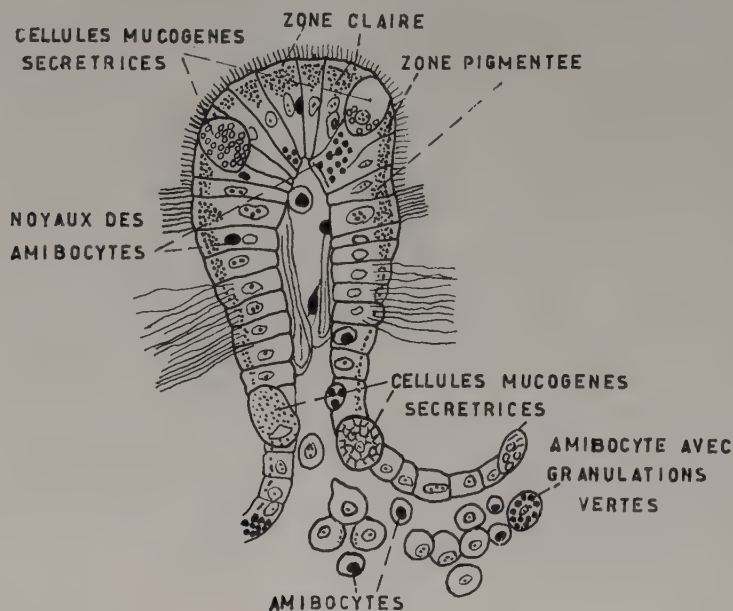


FIG. 2. — Coupe transversale d'un filament branchial d'*Ostrea edulis* d'après CARAZZI, 1897, cité par RANSON (coupe effectuée sur le frais).

En 1935 BACHRACH expose ses conceptions du problème tel qu'il se posait alors. Elle est d'accord avec RANSON sur le fait que le pigment associé à une substance huileuse est soluble dans l'eau douce ou saline. Elle eut en outre le mérite d'observations qui se résument ainsi :

la pigmentation est un caractère acquis sous l'influence de conditions de milieu variées (notamment pH optimum = 8,1 - 8,2) ;

le pigment bleu-vert, ou marennine, se développe à mesure que se réduisent les chloroplastes.

Pour BACHRACH le verdissement « est un processus pathologique en rapport avec un métabolisme perturbé » alors que pour RANSON les navicules acquièrent au cours de la pigmentation une activité débordante. Voilà désormais le problème posé sous des aspects singulièrement contradictoires.

En outre le phénomène de pigmentation est général pour BACHRACH et SIMONET qui affirment en 1936 : « la pigmentation bleue obtenue expérimentalement caractérise un certain nombre de diatomées des genres *Grammatophora*, *Nitzschia*, *Cymbella*, *Gomphonema* et pas seulement *Navicula ostrearia* ». En désaccord sur ce point, RANSON, en 1937 affirmait que cette pigmentation particulière est l'apanage d'une espèce unique : *Navicula ostrearia*.

En 1935 et en 1936 dans le cadre d'une étude plus vaste sur le rôle des substances organiques « dissoutes » RANSON eut quelques occasions de revenir sur ses conceptions quant au verdissement de l'huître mais les observations demeurèrent.

Dès avant 1939 les recherches sur le déterminisme et les causes du verdissement étaient abandonnées. Nous citerons plus loin quelques notes ayant trait à la pédologie des claires, mais nous avons volontairement omis des chercheurs de la fin de ce dernier siècle (JOURDAIN, 1893, et CHATIN, 1892, 1894 par exemple) qui n'apportèrent pas d'éléments véritablement nouveaux.

Le problème du verdissement des huîtres en claires tomba ainsi dans l'oubli jusqu'à ce que nous entreprenions une série de recherches et d'observations de quelque importance qui est l'objet de ce mémoire.

Nous avons ci-dessus précisé l'état des connaissances acquises, les certitudes et les contradictions qui se présentaient il y a quelque 35 années. Ayant ainsi posé le problème en glanant des faits dans une histoire surtout récente il nous paraît nécessaire, eu égard aux travaux précédents, de montrer comment nous envisagions nos recherches dès leur début, après que la question fût restée en sommeil si longtemps.

Au premier abord le rôle déterminant de *Navicula ostrearia* était parfaitement établi et il ne nous paraissait pas nécessaire de pratiquer une étude fondamentale. Pourtant des inconnues subsistaient, illustrées dans le désaccord RANSON - BACHRACH. Des observations personnelles de mesure quantitative de pigments faites avec l'ancienne méthode d'HARVEY datant de 1934, nous avaient indiqué, dès 1962, une chute énigmatique de la teneur en pigments chlorophylliens et cette constatation paraissait en accord avec certaines hypothèses de BACHRACH. Nos recherches *in situ* axées d'abord sur les facteurs éventuels du verdissement nous amenèrent donc à approfondir, dans la mesure de nos moyens, le problème de base. Mais l'eau et le sol nous sont apparus, a priori, toujours liés surtout dans une telle région littorale ou supra-littorale où les interactions sont évidentes. La formation d'océanographe que nous avions d'abord acquise nous incita tout naturellement à envisager le problème sur le plan hydrobiologique beaucoup plus que pédologique : la question était vaste, il fallait se limiter. N'observait-on pas le verdissement dans des dégorgeoirs cimentés où, jusqu'à plus amples informations, l'action du sol pouvait être discutée ? Le problème des pigments posait celui des sucres dont RANSON avait fait état. La multiplication parfois d'allure exponentielle de *N. ostrearia* contredisait, a priori, l'aspect « pathologique » du processus. Beaucoup plus que la recherche de la nature du pigment alors seulement supposée et dont l'étude n'était pas à notre portée matérielle, il nous fallait utiliser les moyens disponibles pour déboucher au plus vite vers quelque application pratique réclamée à bon droit par l'ostréiculture. Ainsi se compliquait considérablement notre tâche : avec quelques certitudes bien acquises, aux prises avec des inconnues redoutables, s'imposait la nécessité des conséquences pratiques de la recherche. Point n'était donc besoin de refaire des expériences simples ; mieux était pour nous d'adapter quelques techniques océanographiques modernes pour l'étude du milieu et d'observer, des années durant, cette navicule au comportement particulier.

Pourtant pour RANSON en 1927 «... Le problème était simple en somme ; il a été embrouillé à plaisir par des auteurs qui n'ont pas été à même de faire les expériences nécessaires ou qui n'ont pas assez longuement observé le phénomène dans la nature et ne s'en sont pas pénétré... »

Pendant de nombreuses années d'études et de recherches sur un terrain et dans un milieu toujours plus inconnus, le problème, fait de difficultés d'ailleurs stimulantes, nous est apparu bien complexe. Nous avons longuement observé le phénomène dans la nature et ne sachant si nous nous sommes pénétré du problème nous avons en tout cas pris conscience de son importance. Il nous a conquis, nous avons voulu l'adapter à notre époque et, par-delà les années, rendre hommage à ceux qui ont ouvert la voie et permettre, par notre contribution, de promouvoir un progrès profitable à une discipline scientifique et à une profession.

Conclusion sur les chapitres I et II.

Nous venons d'esquisser l'importance des claires du bassin de Marennes-Oléron en leur associant étroitement le phénomène qui les caractérise : le verdissement de l'huître causé par *Navicula ostrearia*. Nous avons résumé chronologiquement les travaux déjà effectués sur ce processus biologique dû à la pigmentation exceptionnelle, et semble-t-il unique parmi les diatomées, de *N. ostrearia*. Mais les recherches menées en France sur cette question, d'importance à la fois scientifique et locale, ne furent pas poursuivies au-delà de la guerre 1939-45. Nulle part ailleurs dans notre biosphère un pareil phénomène pigmentaire n'a pris une telle importance économique ; nulle part il n'a été relaté si ce n'est sporadiquement ou isolément, par exemple au Portugal ⁽¹⁾, mais surtout aux U.S.A. et nous avons ainsi été amené à expliciter d'intéressantes recherches faites au début de ce siècle (MITCHELL et BARNEY, 1915-16, 1918).

(1) Communication personnelle (1968) : Dr Hercularo VILELA Laboratorio de biologia maritima, Lisbonne, Portugal.

La somme des connaissances acquises, surtout dans notre région, n'est pas négligeable mais les recherches faites autrefois avec les moyens d'alors ne posent-elles pas, comme toute recherche, pour les biologistes et les océanographes de 1970, davantage de questions qu'elles n'ont pu en résoudre ?

Ainsi le pigment ou marennine produit par *N. ostrearia* est fixé par les branchies et les palpes de l'huître. Ce fait est bien établi : il s'agit d'une absorption tissulaire de substance dissoute (RANSON, 1927). Mais la cause profonde du déclenchement de ce phénomène ainsi que l'action éventuelle des huîtres elles-mêmes sont restées discutées. L'influence des métabolites et des agents extérieurs a posé de même bien des questions. Les inconnues nombreuses qui subsistent ont pris une acuité plus grande avec le peu de connaissances que nous avons sur les claires elles-mêmes. Ainsi dans le cadre même d'une contribution, et pour qui désire en savoir toujours plus, on doit se poser ces questions toujours actuelles. Qu'est-ce qu'une claire ? Comment et pourquoi se déclenche la production du pigment par *N. ostrearia* ? Comment évolue cette diatomée au sein des eaux ? A quelles influences internes et externes obéit cette pigmentation et donc le verdissement de l'huître ?

Après avoir décrit les techniques utilisées puis les divers travaux qui nous ont permis de contribuer à une meilleure connaissance de ce biotope particulier, nous exposerons les recherches faites surtout *in situ* et qui concernent *N. ostrearia* et ses rapports divers avec le milieu où elle se développe et se pigmente. Sa pigmentation nous amène à expliciter dès maintenant une terminologie qui sera souvent utilisée au cours de ce mémoire. Certes la navicule étudiée, à quelque forme écologique qu'elle se trouve, est toujours pigmentée en ce sens qu'elle possède une teneur minimale ou maximale en pigments variables et très différents. Mais lorsque nous parlerons de *Navicula ostrearia non pigmentée* il s'agira toujours d'un organisme exclusivement chlorophyllien. A l'inverse, *Navicula ostrearia pigmentée* signifiera toujours une diatomée, non dépourvue de chlorophylle, mais caractérisée par une production variable de marennine. De même une *claire non pigmentée* ou *blanche* sera celle où la présence de *N. ostrearia* pigmentée n'a pas été détectée ; une *claire pigmentée* sera toujours caractérisée par une population benthique faite, en proportions variables, de *N. ostrearia* contenant ce pigment encore énigmatique appelé marennine.

Le but de nos recherches se place ainsi dans un contexte très général.

CHAPITRE III

METHODES ET TECHNIQUES

I. - Prélèvements des eaux et des vases.

a) Eaux. Pour la filtration et l'étude des pigments, les eaux ont été prélevées à l'aide de plusieurs flacons en polyéthylène lestés avec du plomb et suspendus à un fil de nylon. Le flacon était suffisamment introduit dans l'eau pour permettre son remplissage quand l'orifice se trouvait à 4 ou 5 cm de la surface. Un prélèvement était effectué à la dérase et un autre à l'opposé. Des observations préliminaires en rapport avec l'étude de la flore donneront plus loin (chap. IV) les motifs de ce protocole.

Les échantillons d'eau de fond, récupérés d'abord avant toute agitation, et destinés à la mesure du phosphate inorganique dissous, du calcium, du magnésium, de la salinité ont été prélevés à l'aide d'un appareil simple (fig. 3). On place alors avec précaution sur le fond de la claire l'extrémité du tube pourvu de son entonnoir, afin de permettre la stagnation de l'eau. Elle est prélevée par aspiration environ 15 mn plus tard et recueillie dans un flacon préalablement rincé avec l'échantillon lui-même, ce rinçage préalable étant partout de règle.

Pour la mesure de l'oxygène dissous nous avons utilisé le même appareillage, l'échantillon étant recueilli directement dans un flacon de verre Pyrex et l'eau étant prélevée à 4 ou 5 cm sous la surface en suspendant l'extrémité du tube à un flotteur. Dans le cas de l'oxygène il fallait en effet

éviter le contact de la limite eau-atmosphère où l'influence du vent aurait amené une oxygénation anormale et variable. D'ailleurs avec ce dispositif aucune bulle d'air, même très petite, ne pouvait pénétrer avec l'échantillon.

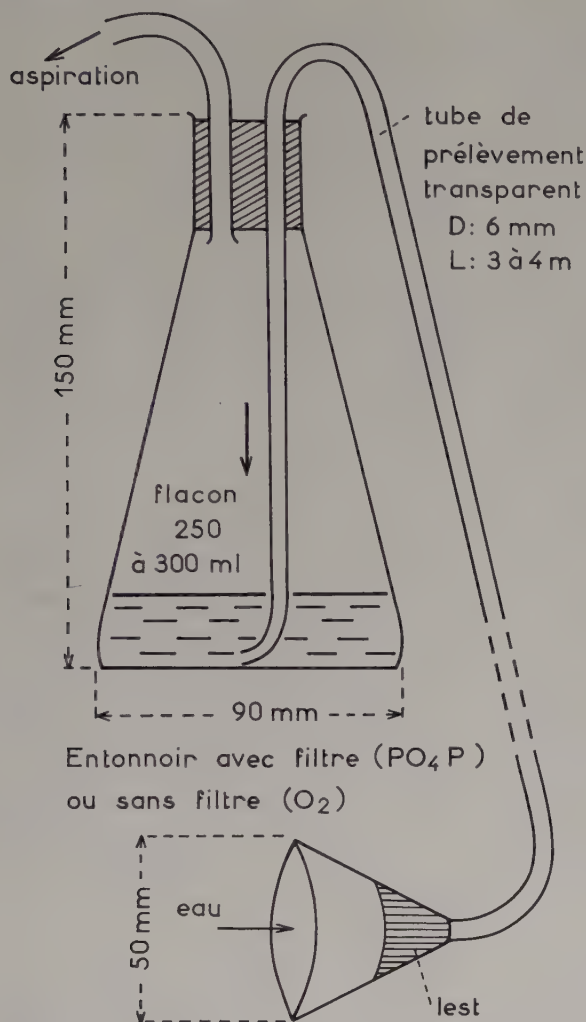


FIG. 3. — Schéma de l'appareil utilisé pour le prélèvement des eaux au fond des claires.

Il y a lieu de préciser que toutes les eaux destinées aux dosages de substances dissoutes ont été prélevées avec l'entonnoir muni d'un filtre de nylon (maillage permettant un vide théorique de 70-75 μ), sauf pour l'oxygène, car la retenue des organismes de tous ordres pourrait perturber la détermination et le calcul de la productivité nette.

Nous avons fait les prélèvements, dits de surface, dans la couche superficielle sans, bien sûr, de difficulté quelconque.

D'une manière générale tous les échantillons ont été prélevés en double, en surface et en fond. Lorsque de surcroît ils ont été faits à la dérase et à l'opposé, notamment pour la mesure des pigments, les vases superficielles ont été prélevées simultanément à la verticale des mêmes lieux.

b) Vases. Les vases superficielles, prélevées près de la dérase ou à l'opposé, ont servi soit à la détermination de la fréquence de *Navicula ostrearia* dans la flore benthique, soit à la mesure de la teneur en hydrates de carbone particuliers. Nous avons prélevé la vase superficielle sur une épaisseur inférieure à un demi-centimètre à l'aide d'une cupule possédant un bord plat et munie d'un manche assez long afin que le prélèvement puisse être effectué non sur la doue mais sur la bordure du platin au voisinage éventuel des huîtres et à l'abri des érosions de l'aboteau.

Nous expliciterons, ci-après, les diverses techniques utilisées. Précisons toutefois dès maintenant que pour les échantillons destinés à la mesure de l'oxygène dissous dans l'eau celui-ci a toujours été fixé sur le terrain, au chlorure de manganèse et à la potasse iodurée.

II. - Techniques d'analyses.

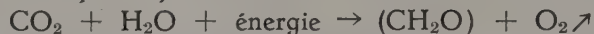
Les échantillons placés ainsi à l'obscurité et au froid ont généralement été filtrés ou dosés, suivant le cas, deux à trois heures environ après le prélèvement, sauf pour l'oxygène dissous et pour la salinité dont la détermination n'était pas urgente.

Nous passerons successivement en revue dans ce paragraphe les diverses techniques bio-chimiques utilisées, nous en préciserons les références et expliciterons les innovations, modifications ou adaptations que nous avons apportées.

D'une manière générale et plus spécialement pour les analyses spectrophotométriques nous avons fait largement appel à des ouvrages de base indispensables, tels ceux de CHARLOT (1961) et de STRICKLAND et PARSONS (1965).

1° Détermination de l'oxygène dissous et de la productivité primaire.

L'équation théorique de la photosynthèse



montre, comme l'ont expliqué différents auteurs (STEEMANN-NIELSEN, STRICKLAND) qu'on peut mesurer expérimentalement soit le carbone fixé soit l'oxygène produit dans les eaux marines.

Deux techniques peuvent donc être utilisées.

La mesure du carbone à l'aide d'un traceur radio-actif (^{14}C) est la technique de STEEMANN-NIELSEN (1952, 1958). Le principe est le suivant : on ajoute à l'eau de mer une quantité connue de $^{14}\text{CO}_2$, après quelques heures ou un jour complet on détermine la valeur du contenu du plancton retenu sur un filtre spécial (Membranfilter-Göttingen) que l'on multiplie par un facteur correspondant au rapport entre le CO_2 total et le $^{14}\text{CO}_2$ mesurés en début d'expérience, on déduit ainsi la quantité totale de carbone assimilé. Le contenu du plancton en ^{14}C est déterminé en mesurant les radiations β à l'aide d'un compteur Geiger-Muller.

Cette technique est surtout utilisée dans les études portant sur les effets de l'intensité lumineuse sur la fixation du carbone par les cellules.

La mesure de l'oxygène libéré par dégradation du CO_2 au cours de la photosynthèse en vue de mesurer la productivité est de conception plus ancienne (GRAN, 1927). L'utilisation de flacons clairs (où s'effectuent les phénomènes d'assimilation et de respiration) et de flacons sombres (où la photosynthèse n'a pas lieu) est d'application plus récente (PATTEN et coll., 1964). Cette technique avait été d'ailleurs utilisée en U.R.S.S. avec quelques variantes (Mer d'Aral, Mer Caspienne) (FEDOSOV et WINBERG, 1957-58). Elle est d'utilisation plus simple et est souvent préférable pour des recherches de productivité proprement dites où l'on veut apprécier surtout les changements nets dans la quantité de nourriture primaire (M.L. FURNESTIN, 1964 ; PÉRÈS et DEVÈZE, 1963).

L'étude préliminaire des variations, d'ailleurs importantes, de la teneur en oxygène de l'eau des claires nous a incité à utiliser cette dernière technique. Nous exposerons donc successivement la technique de mesure de l'oxygène dissous telle que nous l'avons appliquée puis la technique de mesure de la productivité primaire laquelle, dans nos recherches, a nécessité la conception d'un dispositif spécial.

Analyse de la teneur de l'eau en oxygène dissous.

a) Références. La technique employée est celle de Winkler universellement connue et utilisée (BARNES, 1959 ; I.C.N.A.F.-NORWESTLANT, 1963). Elle a fait l'objet de diverses adaptations de détails (CARRIT et CARPENTER, 1966), de recherches sur l'exactitude des mesures (CARPENTER, 1965), et d'études (ROTSCHI, 1963) sur les différentes sources d'erreurs possibles en océanographie physique de profondeur. La technique de Winkler a même été le sujet de recherches intéressantes en vue d'une adaptation spectrophotométrique (TROTTI et SACKS, 1961 ; MOREL, 1963 et 1965). Mais dans ce cas l'étalonnage doit être fait en prenant pour référence la même technique de Winkler par titrimétrie. Elle est particulièrement valable lorsque des variations très faibles doivent être décelées, ce qui n'est pas le cas dans les eaux des claires.

b) Principe. En milieu alcalin une partie de l'hydrate manganoux est oxydée en hydrate manganique par l'oxygène dissous. Par acidification du milieu l'oxyde manganique formé se comporte comme un oxydant vis-à-vis de l'iodure de potassium ; l'iode est libéré en même temps que l'oxyde manganique est régénéré en donnant le sel correspondant à l'acide utilisé. L'iode est alors dosé au thiosulfate de sodium avec l'empois d'amidon comme indicateur.

Ainsi, en négligeant les réactions intermédiaires d'oxydation et de réduction des oxydes de manganèse, la réaction globale peut s'écrire : $2 \text{I}^- + 1/2 \text{O}_2 + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{I}_2 + \text{H}_2\text{O}$ d'après MOREL (1965), et à 16 g d'oxygène correspondent 254 g d'iode.

c) **Mode opératoire.** L'eau est prélevée avec l'appareillage déjà décrit et recueillie sans introduction d'air dans un flacon de 250 ml bouché émeri. Mais dès prélèvement, l'oxygène dissous est fixé avec :

un ml de chlorure de manganèse (400 g q.s.p. un litre) ;

un ml de potasse iodurée ainsi préparée : 500 g KOH q.s.p. 500 ml, 150 g IK q.s.p. 250 ml (q.s.p. un litre).

Le flacon est refermé avec toutes les précautions requises et homogénéisé par légère agitation. Après transport au laboratoire on ajoute 1 ml d'acide sulfurique pur. L'iode ainsi libéré pourra être dosé sans crainte de modification dans les jours ultérieurs. Une technique titrimétrique classique est alors suffisante à condition toutefois que les dosages soient toujours effectués en double, afin de prévenir une erreur expérimentale possible, ou simplement d'atténuer l'imprécision normale des mesures de l'ordre de 0,06 à 0,08 ml % d'O₂.

Le thiosulfate N/80, qui permet le dosage de l'iode, est titré à chaque série d'analyses à l'aide de : 10 ml iodate N/80, 50 ml eau distillée bouillie, 1 g IK, 1 ml H₂SO₄ pur.

Le dosage de l'iode est effectué avec une burette automatique graduée au 1/20 de ml remplie de thiosulfate de soude N/80. Quelques gouttes d'empois d'amidon servent d'indicateur.

Cette technique ne présente aucune difficulté expérimentale mais nécessite de grandes précautions tant au prélèvement qu'au dosage. Nous avons en outre toujours utilisé des flacons soigneusement calibrés quant au volume dont il était tenu compte dans le calcul des résultats.

En outre, nous avons déterminé le pourcentage de saturation en oxygène dissous à l'aide de la table de Fox in HARVEY (1949) en utilisant les données de la température relevée *in situ*, et de la Cl ‰ déterminée sur le même échantillon au laboratoire.

Techniques de mesure de la productivité primaire dans les eaux des claires.

a) **Principe et conditions expérimentales.** Les diverses techniques utilisées prises pour références (FEDOSOV, GRAN, PATTEN et coll., STEEMANN-NIELSEN, WINBERG) la connaissance que nous avons acquise des claires au point de vue notamment de leurs aspects hydro-bio-dynamiques explicités dans le chapitre suivant, les mesures introductives que nous avons faites pour apprécier la grande variabilité de la teneur en oxygène dissous nous ont fait adopter la technique comparative des flacons clairs et sombres.

Mais diverses conditions étaient requises pour une expérimentation valable :

l'eau enfermée dans les flacons devait se trouver au même lieu de prélèvement ;

les flacons devaient être immergés sans que la profondeur fût trop grande afin d'éviter le dépôt de particules vaseuses qui auraient pu diminuer la luminosité ;

les mesures devaient être faites en double dans une claire choisie pour son niveau moyen, pour sa production d'huîtres répondant à des normes régulières, pour son ensoleillement sans ombre, dans une claire en somme correspondant à un excellent échantillon tel que nous le décrirons plus loin (chap. IV).

b) **Matériel utilisé.** La construction d'un support fixe ne semblait pas une réponse convenable à tous ces impératifs car celui-ci n'aurait pas permis une même souplesse d'utilisation, d'une claire à une autre, ou bien dans la même claire quant aux variations de niveau dues aux marées. Nous avons donc conçu et réalisé un radeau supportant les flacons. Celui-ci (fig. 4) est constitué d'un châssis en bois lesté de plomb à chaque extrémité, de dimensions 70 x 27 cm, immergé mais retenu par deux flotteurs. Le fond du châssis est constitué d'un grillage plastique de 4,5 cm d'ouverture de maille permettant le support des flacons mais en même temps la libre circulation de l'eau. L'ensemble châssis, fond et flotteurs est peint en gris, teinte qui nous a paru être la moins réfléchissante et la moins absorbante pour un bon éclairage des flacons transparents.

Les flacons sont au nombre de quatre :

deux à chaque extrémité soigneusement enveloppés dans un sac en matière plastique noire avec toutefois quelques perforations qui, sans laisser pénétrer la lumière, permettent la circulation de l'eau ou du moins un léger renouvellement,

deux au centre du radeau, transparents et bien exposés à la lumière.

L'ensemble en position de flottaison se maintient de telle manière que les flacons soient à 4-5 cm de la surface, et est dirigé perpendiculairement au sud géographique puis amarré à chacun des aboteaux latéraux.

c) **Technique expérimentale.** Cette installation, très stable, est mise en place dans la claire au lever du soleil et enlevée au coucher, l'heure G.M.T. étant prise pour référence. Au moment du remplissage et de l'enlèvement des quatre flacons, deux autres échantillons sont prélevés pour la mesure *in situ* de la teneur en oxygène dissous afin de déterminer le pourcentage de saturation lors de l'expérience compte tenu de la température que nous relevons.

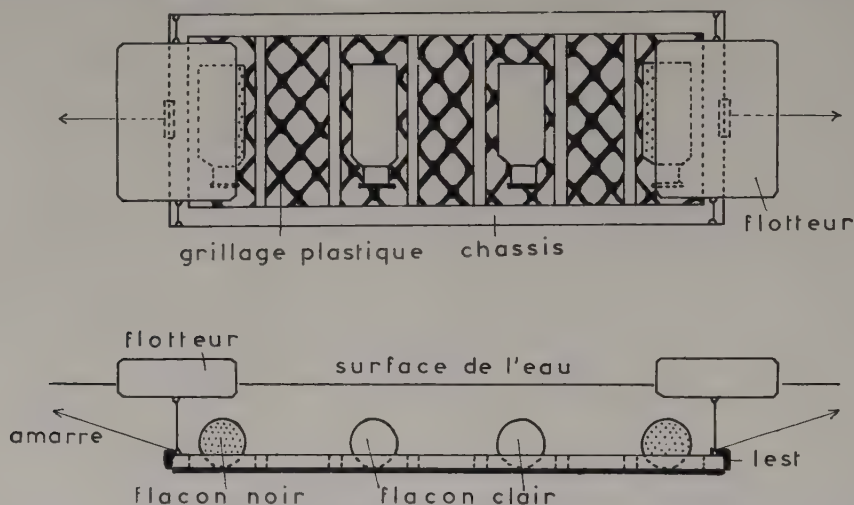


FIG. 4. — Schéma du radeau supportant les flacons clairs et noirs pour la mesure *in situ* de la productivité primaire.

La teneur en oxygène dissous (a) déterminée dans les flacons clairs au coucher du soleil représente la *productivité brute*. Celle obtenue dans les flacons noirs (b) est privée de la production d'oxygène puisque la photosynthèse n'y a pas lieu. Dans l'un et l'autre cas la consommation d'oxygène due notamment aux phénomènes de respiration et d'oxydation divers est théoriquement la même. (a) est donc en principe plus ou moins grand que (b) et la différence (a) — (b) représente la *productivité nette*.

Dans ces conditions le rapport : $(a) - (b) / (a) = \text{productivité nette} / \text{productivité brute}$ exprimé par un coefficient inférieur à 1 est particulièrement significatif comme nous le verrons et diverses expérimentations préliminaires en rapport avec la variation diurne continue de la teneur en oxygène dissous dans la même claire nous avaient montré la valeur du résultat final recherché.

2° Analyse des pigments.

Analyses colorimétriques des pigments totaux.

Dans le cadre des recherches générales incombant au laboratoire nous avons utilisé de 1961 à 1964 la technique de HARVEY (1934) pour diverses claires expérimentales. A cette occasion des observations intéressantes ont été faites que nous relatons d'autre part. Mais elles n'ont eu pour nous que le mérite de nous permettre d'orienter nos recherches en attendant d'utiliser des techniques plus précises.

Le principe est le suivant : afin d'estimer la teneur en phytoplancton d'un volume d'eau déterminé celui-ci est filtré sur une membrane en cellulose d'une porosité de 800 mμ et le filtrat obtenu est extrait à l'acétone à 80 % puis comparé avec une gamme d'unités arbitraires. De toute évidence cette technique est entachée de graves inconvénients. La présence d'un nannoplancton plus ou moins animal ou végétal, la turbidité inégale des eaux font que la comparaison optique, par ailleurs insuffisante, avec une solution chimique standard est souvent inexacte et les résultats comme les manipulations sont pour le moins discutables. Néanmoins la technique d'Harvey a constitué pour

nous, dès le début, un moyen d'approximation *in situ* intéressant, d'autant plus d'ailleurs qu'une certaine habitude permet d'éliminer les mesures douteuses.

Nous préciserons donc pour mémoire la composition de la solution standard de comparaison utilisée :

0,25g de chromate de potassium ; 4,30 g de sulfate de nickel : $\text{SO}_4 \text{Ni} 6\text{H}_2\text{O}$; ou

4,58 g de sulfate de nickel : $\text{SO}_4 \text{Ni} 7\text{H}_2\text{O}$; q.s.p. 1 l d'eau acidifiée (2 à 3 gouttes de SO_4H_2)

Cette solution équivaut à 10 unités Harvey par ml. SVERDRUP (1952) a fixé une équivalence optique avec la chlorophylle : 1 unité Harvey = $0,88 \pm 0,01 \mu\text{g}$ de chlorophylle. C'est en ce sens d'ailleurs que la technique a une réelle valeur car elle apporte une base de comparaison valable avec une solution de chlorophylle. De ce fait nous avons pu, comme nous le verrons et faute de ne pouvoir posséder une chlorophylle a ou c très pure, l'utiliser comme étalon dans nos analyses spectrophotométriques mais nous l'avons fait avec prudence.

Analyse spectrophotométrique des pigments : courbes d'absorption.

Les courbes d'absorption ainsi que les analyses spectrophotométriques ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre du type Prolabo, Jean et Constant, à deux cellules photoélectriques (caesium et antimoine) permettant de travailler entre 3 750 et 11 000 Å. La bande monochromatique passante est assez étroite allant de 10 Å dans le violet à 60 Å dans le rouge. À cet appareil a été adjoint un régulateur de tension 220 V permettant une grande stabilité du zéro électrique. Une surveillance répétée de la tare optique, parfois même un changement des lampes amplificatrices et d'éclairage ont permis d'obtenir une bonne fidélité des mesures.

La détermination des courbes d'absorption a été faite avec toutes les précautions requises, notamment quand il s'agit de solvants volatils. Nous avons toujours employé l'étalement le plus élevé compatible avec un champ optique moyen des cuves utilisées pour obtenir ainsi le résultat le plus constant et le plus précis compte tenu des inégalités optiques des cuves employées.

Précisons dès maintenant que la majorité des recherches a été effectuée à l'aide de techniques spectrophotométriques récentes que nous expliciterons et qui dérivent elles-mêmes de techniques américaines basées sur l'étude des populations phyto-planctoniques (RICHARDS, 1952), sur l'utilisation d'une technique de détermination simultanée (RICHARDS et THOMPSON, 1952) et sur l'emploi de filtres millipores (CREITZ et RICHARDS, 1955).

Analyse spectrophotométrique des pigments.

1) Chlorophylles.

a) *Technique expérimentale.* L'échantillon amené au laboratoire est filtré sous vide (pression résiduelle : 5 mm de mercure). Une quantité de 1,5 à 2,5 l d'eau de claire est prélevée comme il est indiqué ci-dessus. Elle est a priori suffisante d'après RICHARDS et THOMPSON (1952) et, en tout cas, compatible avec les difficultés dues à la turbidité des eaux de la région. Les filtres utilisés sont du type Gelman A en fibres de verre ($\varnothing$ 50,8 mm). La porosité de l'ordre de 2 μ est suffisante pour les organismes à retenir sans amener une obturation trop rapide due à la turbidité. Toutefois nous avons toujours pratiqué une refiltration des 500 premiers ml ; ceci permet de retenir les organismes qui auraient pu passer dès le début de la filtration en utilisant le colmatage partiel du filtre. Ces filtres ont en outre l'avantage de ne pas retenir une partie des pigments comme c'est le cas avec les modèles Millipore notamment (CREITZ et RICHARDS, 1955) et après avoir refait les comparaisons de SPENCER (1964) nous avons avec lui préféré les filtres Gelman.

Le filtre, laissé quelques minutes à la température du laboratoire pour permettre l'évaporation de l'eau résiduelle, est écrasé et désagréé dans 10 à 15 ml d'acétone à 90 % et le tube qui le contient est fermé hermétiquement. Les 10 % d'eau distillée permettent, comme il a été établi (SCORUNESCO, 1964), de dissocier les liaisons protéiniques avec les chlorophylles. En cours de filtration nous avons toujours ajouté du carbonate de magnésium pur, en poudre fine, soit 2 ml d'une suspension homogène à 10 g/l afin d'obtenir sur le filtre un dépôt d'environ 10 mg/cm². Le $\text{CO}_3 \text{Mg}$ ajouté empêche en effet la dégradation des chlorophylles.

Après un séjour de 20 heures environ à l'obscurité et à une température voisine de 0°C, le filtrat, le filtre et le solvant qui forment un mélange homogène sont placés en tube toujours bien fermé, et centrifugés pendant 15 mn à 5 000 tours/mn au moins.

Après un nouveau refroidissement en raison de la volatilité du solvant nous mesurons au spectrophotomètre les densités optiques aux longueurs d'onde de 4 300 et 4 800 Å pour les phéopigments et pour les caroténoïdes non-astaciens, à 6 630, 6 450 et 6 300 Å respectivement pour les chlorophylles *a*, *b* et *c* ainsi qu'à 7 500 Å pour apprécier la turbidité résiduelle éventuelle (SCOR-UNESCO, 1964). Toutefois nous avons retenu la longueur d'onde de 6 630 et non 6 650 Å pour la chlorophylle *a* afin d'être en accord avec les expérimentations récentes (SCOR-UNESCO, 1964 et 1966) confirmées depuis par JACQUES en 1968. Les cuves de référence utilisées contenaient bien entendu un solvant identique à celui contenu dans les cuves de mesure et surtout à la même température. En outre diverses corrections ont été appliquées ; il s'agit de corrections optiques établies expérimentalement pour les cuves utilisées et de corrections de turbidité. Pour celles-ci et dans le cas d'eaux particulièrement turbides une centrifugation légèrement plus poussée est nécessaire. Au pire, la correction n'a jamais dépassé 0,010, valeur en densité optique. Dans certains cas extrêmes nous avons pu réduire ces inconvénients, sans atteindre la précision des mesures, en filtrant un volume maximum de 3 litres fractionné en deux parties. Un filtre distinct était utilisé pour chacune de celles-ci et les deux étaient écrasées de la même manière dans la même quantité d'acétone à 90 %.

b) *Calcul des résultats.* Les mesures trichromatiques portant simultanément sur les chlorophylles *a*, *b*, *c* et les mesures des chlorophylles *a* et *c* seulement seront successivement considérées.

Mesure simultanée des chlorophylles *a*, *b* et *c*.

Les densités optiques obtenues aux longueurs d'onde indiquées ci-dessus et corrigées comme il a été indiqué plus haut sont portées dans les équations recommandées par les instructions SCOR-UNESCO, 1964 et 1966, et que nous reproduisons ci-dessous :

$$\begin{array}{llll} \text{chlorophylle } a = & + 11,64 \text{ à } 6\,630 \text{ Å} & + 0,10 \text{ à } 6\,300 \text{ Å} & - 2,16 \text{ à } 6\,450 \text{ Å} \\ \text{chlorophylle } b = & + 20,97 \text{ à } 6\,450 \text{ Å} & - 3,94 \text{ à } 6\,630 \text{ Å} & - 3,66 \text{ à } 6\,300 \text{ Å} \\ \text{chlorophylle } c = & + 54,22 \text{ à } 6\,300 \text{ Å} & - 14,81 \text{ à } 6\,450 \text{ Å} & - 5,53 \text{ à } 6\,630 \text{ Å} \end{array}$$

Chaque coefficient d'extinction à la longueur d'onde donnée est multiplié par la valeur de la densité optique corrigée obtenue pour chaque chlorophylle *a*, *b* ou *c* à la longueur d'onde indiquée et le même calcul est fait, bien entendu, pour chaque échantillon. Le résultat final donne une valeur moyenne des eaux de la claire puisque nous avons prélevé deux échantillons filtrés après mélange.

Mesures des chlorophylles *a* et *c*.

L'expérience nous a montré, en accord avec PARSONS (1963), STRICKLAND et PARSONS (1965) que si la chlorophylle *a* n'apporte aucune difficulté de détermination il n'en est pas exactement de même de la chlorophylle *c* dont le résultat final est légèrement différent de celui obtenu avec la technique trichromatique.

Nous avons donc été amené dès 1967 à employer deux techniques ou modes de calcul différents pour la chlorophylle *a* d'une part et pour la chlorophylle *c* d'autre part.

Pour la chlorophylle *a*, nous avons utilisé l'équation de HUMPHREY et JEFFREY in SCOR-UNESCO (1966, p. 68) :

$$\text{chlorophylle } a = 13,4 \text{ à } 6\,630 \text{ Å} - 0,3 \text{ à } 6\,300 \text{ Å}$$

Les valeurs corrigées et obtenues après centrifugation de l'extrait dans l'acétone à 90 % sont directement utilisables avec cette équation. Les résultats déterminés de cette manière sont identiques à ceux obtenus pour la chlorophylle *a* avec la technique trichromatique que nous avons résumée, mais les calculs sont simplifiés.

Pour la chlorophylle *c* le problème est plus complexe et la détermination, quoique bien plus longue, a mérité d'être faite car elle permet d'obtenir des résultats avec une précision meilleure. Nous indiquons ci-après le principe de cette mesure exposée par les auteurs déjà cités (PARSONS, 1963 ; STRICKLAND et PARSONS, 1960). Cette chlorophylle *c* est déterminée en évaluant sa transformation en phéophytine *c* par acidification au HCl à partir de l'extrait dans l'acétone à 90 % utilisé pour le dosage trichromatique et traité à l'hexane pur pour séparer par adsorption certains pigments.

Expérimentalement, on mélange 10 ml extrait centrifugé dans l'acétone à 90 %, 3,5 ml solution NaCl à 0,05 % et 13,5 ml hexane pur pour spectrophotométrie. On agite le mélange une minute puis on le laisse reposer. L'hexane a adsorbé la totalité des pigments sauf la chlorophylle *c* que l'on veut précisément doser et des traces de chlorophylle *a* pour laquelle il sera fait une correction.

Après décantation c'est donc sur la partie inférieure acétonique que sont effectuées les mesures spectrophotométriques. La densité optique est lue à 4 500 et 6 630 Å *avant* puis *après* l'adjonction de 0,02 ml de HCl. L'acidification produit une phéophytinisation de la chlorophylle *c* mesurée par différence des densités optiques à 4 500 Å. La correction de chlorophylle *a* étant effectuée il est facile alors d'obtenir en µg/l la teneur en chlorophylle *c*. Il suffit de faire les calculs simples indiqués par l'auteur.

Des expériences préparatoires à l'utilisation de la technique de PARSONS (1963) nous avaient montré que la teneur en chlorophylle *c* est obtenue dans de bien meilleures conditions, surtout lorsque cette chlorophylle est en faible quantité ; l'erreur expérimentale est en effet réduite à 10 % de celle de 1 % généralement admise pour la mesure trichromatique simultanée.

Il est par ailleurs important de remarquer que les filtres allemands en esters de cellulose du type Membran-Filter-Göttingen (cf : Millipore américain) ne conviennent pas à la technique de PARSONS. En effet, comme nous avons pu le constater à plusieurs reprises, l'adjonction de NaCl forme immédiatement un précipité blanc qui interdit toute mesure ultérieure.

2) Caroténoïdes.

La mesure des *caroténoïdes non-astaciens* est effectuée à 4 800 Å (PARSONS et STRICKLAND, 1963) ; cette longueur d'onde correspond également au maximum d'absorption du β-carotène ainsi que l'ont établi les auteurs. La technique utilisée dans nos recherches est celle de RICHARDS et THOMPSON de 1952. Toutefois au coefficient de 7,6 préconisé par les auteurs dans le calcul nous avons substitué celui de 10 car le spectrophotomètre utilisé permet un étalement assez large des mesures. Afin d'obtenir pour les chlorophylles par calcul trichromatique des résultats non seulement proportionnels entre eux mais surtout conformes à la réalité, nous avons dû régler l'étalement des mesures sur une valeur standard et à cette fin nous avons pris pour référence la solution d'Harvey décrite plus haut. Dans ces conditions, la valeur totale de ce type de caroténoïdes obtenue avec le même étalement de l'appareil devait garder une stricte proportionnalité avec celle des chlorophylles dans le même échantillon.

Par ailleurs, PARSONS et STRICKLAND ont donné en 1963 une équation permettant le calcul des caroténoïdes non-astaciens à partir de la solution obtenue dans l'acétone à 90 %. Cette équation tient précisément compte d'une constante ($K = 10$) que nous avons établie pour obtenir, avec notre appareil, des valeurs qui ne soient pas arbitraires ; c'est donc en connaissance de cause que nous avons intégralement adopté cette équation qui tient compte également de la valeur de la turbidité résiduelle à la longueur d'onde utilisée et peut s'écrire de la manière suivante : caroténoïdes non-astaciens en µg/l = $10 (D_{4800} - 3 D_{7500}) v / 1 \times V$

D représente la densité optique à 4 800 et 7 500 Å, l le champ optique des cuves utilisées, v le volume de l'extrait dans l'acétone à 90 % en ml, V le volume de l'eau de mer filtrée en litres.

La mesure des pigments *caroténoïdes astaciens*, elle, n'a pas été effectuée. En effet un grand nombre de Mysidacés ajoutés expérimentalement au phytoplancton normal des claires nous avait permis de ne mettre en évidence qu'une très légère absorption sur 5 100 Å longueur d'onde donnée par les mêmes auteurs (RICHARDS, 1952) pour ces caroténoïdes, or, d'après eux ces pigments ne constituent qu'une partie infime de ceux du plancton ; ils ne pouvaient donc faire l'objet d'une détermination précise. L'étude ultérieure, en montrant la prédominance considérable du plancton végétal, confirmait la voie que nous avons suivie, conforme par ailleurs au but à atteindre dans notre méthode d'investigation.

3) Phéo-pigments.

La détermination des phéo-pigments totaux, effectuée sur la longueur d'onde de 4 300 Å correspondant au sommet d'absorption des pigments dans l'acétone à 90 %, est plus complexe. Elle mérite des explications sur la technique utilisée, sur l'usage et sur l'interprétation que nous en avons

faite. A l'époque où la détermination de ces pigments aurait été souhaitable aucune technique n'était connue pour la détermination précise des phéo-pigments. Depuis, divers travaux ont comblé cette lacune notamment ceux de STRICKLAND et PARSONS en 1968. Or, on sait qu'à la longueur d'onde de 4 300 Å les pigments d'origine marine sont nombreux, souvent la chlorophylle domine (RABINOWITCH, 1945). On sait aussi l'importance considérable des pigments dégradés (phéo-phytine et phéo-phorbide décrites par de nombreux auteurs américains : RICHARDS et THOMPSON, 1952 ; STRICKLAND, 1960) lesquels dérivent de diverses chlorophylles et ont une forte absorption sur cette longueur d'onde.

Parmi toutes les mesures faites par nous la détermination des phéo-pigments est la seule qui ait une valeur relative ; en effet, si elle ne correspond pas à la réalité absolue en raison de l'interférence d'autres pigments, elle a le mérite de donner fidèlement la variabilité du matériel détritique pour chaque échantillon. Il ne faut pas oublier que les matières particulières planctoniques sont constituées en grande partie de pigments détritiques et qu'en outre la dégradation naturelle de la chlorophylle est plus importante dans les eaux côtières de grande turbulence (KREY, 1958). Par ailleurs, toutes les techniques multichromatiques qui permettent actuellement la détermination spectrophotométrique des chlorophylles, utilisent la bande de longueur d'onde de 6 450 à 6 630 Å et non celle des 4 300 Å parce que celle-ci convient beaucoup moins aux pigments recherchés : en effet, d'autres pigments notamment des xanthophylles et surtout des phéo-pigments et des pigments détritiques divers ont, à cette longueur d'onde, leur maximum d'absorption.

Ainsi, en l'absence de techniques adaptées à la recherche précise des phéo-pigments nous avons évalué la teneur en matériel détritique ou phéo-pigments par une méthode simple et simultanée inspirée des publications de STRICKLAND (1960) et de MARGALEF (1960, 1961, 1963). A quantités égales de chlorophylles actives déterminées dans la bande des 6 450 - 6 630 Å ce dernier auteur avait considéré le sommet à 4 300 Å comme l'expression d'une dégradation des pigments lorsque la densité optique obtenue à cette longueur d'onde augmente. La comparaison des eaux du bassin de Marennes-Oléron et celles de la Gironde riches en apports détritiques végétaux d'origine fluviale nous en avait donné confirmation. Dès lors une mesure des phéo-pigments obtenue avec une formule identique à celle permettant le calcul des caroténoïdes non-astaciens pouvait permettre d'apprécier la dégradation des pigments. Mais nous n'avons utilisé la valeur obtenue qu'en rapport avec les chlorophylles *a* et *c* plus caractéristiques des diatomées. Ainsi la variation du rapport phéo-pigments/chlorophylles *a* + *c* constitue un indicateur d'un certain intérêt dans l'évaluation de la biodégradation chlorophyllienne des claires. Sans être à la base de nos travaux il nous permettra de confirmer certains faits observés avec d'autres techniques précises ce qui justifie l'explication que nous venons de donner.

3° Analyses spectrophotométriques des hydrates de carbone dissous et particuliers.

Hydrates de carbone dissous.

Nous avons utilisé la technique de DUBOIS et coll., 1956, pour les hydrates de carbone dissous dans l'eau des claires après avoir filtré celle-ci sur filtre Gelman A.

a) Principe. Les sucres simples et leurs dérivés donnent une couleur jaune-orangé s'ils sont traités au phénol et à l'acide sulfurique concentré. Cette méthode est sensible et elle permet généralement de détecter des quantités sub-microscopiques d'hydrates de carbone dissous, mais elle était limitée, dans notre cas, par les possibilités de l'appareil de mesure.

b) Technique expérimentale résumée. La densité de l'acide sulfurique P.A. utilisé, doit être de 1,83. Nous avons employé un phénol cristallisé pur que nous avons redistillé extemporanément. Après deux solutions avec ce phénol, la première composée de 80 g de phénol et de 20 g d'eau distillée, la seconde ou solution de dosage est la solution précédente à 5 % de volume, nous avons établi une gamme de dilutions successives de D (+) glucose de 10 à 500 γ/l. Plusieurs courbes d'absorption et plusieurs droites d'étalonnage nous ont permis de déterminer la quantité optimale de phénol nécessaire au dosage, elle consiste en 5 ml de la solution 2 avec le spectrophotomètre utilisé. La bande de mesure est comprise entre 4 850 Å et 4 900 Å.

Pour le dosage on mélange dans un tube les éléments suivants : 2 ml eau de mer filtrée, 5 ml solution 2 de phénol, 5 ml SO₄H₂ avec une pipette à 1 trait qui doit être vidée rapidement sur la

surface. On laisse reposer ce mélange 10 mn puis on l'agite légèrement et on le place dans un bain-marie de 25-30 °C pendant 15 mn. La couleur obtenue reste stable plusieurs heures.

La bande du spectre utilisable donne sur notre appareil des résultats trop peu étalés qui ne nous ont pas permis d'atteindre la précision souhaitée. La précision obtenue était de l'ordre de 10 γ dans les plus faibles valeurs, l'approximation n'étant que de 50 γ dans les valeurs les plus élevées. Néanmoins, les résultats obtenus constituent, comme nous le verrons, une approximation d'autant plus intéressante qu'elle est nouvelle dans ce milieu.

Hydrates de carbone particuliers.

Nous avons appliqué deux techniques, dont la seconde dérive de la première, suivant qu'il s'agissait de mesurer les hydrates de carbone inclus dans la biomasse planctonique de plusieurs litres d'eau (HEWITT in STRICKLAND et PARSONS, 1960, 1965) ou bien d'apprécier la quantité d'hydrates de carbone contenue dans le tapis vaseux et superficiel du fond des claires.

Hydrates de carbone particuliers des eaux.

a) Principe. Le filtrat de plusieurs litres d'eau (2 en général) contenant des hydrates de carbone est placé en réaction avec une solution d'anthrone dans l'acide sulfurique. La solution bleu-vert obtenue après réchauffement est mesurée après centrifugation à la longueur d'onde de 6 200 Å (hexoses sous forme mono- ou polysaccharides).

b) Technique expérimentale. L'utilisation du filtre Gelman A en fibre de verre a obligé à une vérification expérimentale afin d'établir qu'aucune interférence n'apparaît ainsi que le prouve la similitude des deux courbes E_b et F (fig. 5). Ce résultat étant acquis, nous avons pu appliquer la technique de Hewitt déjà citée sans y apporter de modifications particulières.

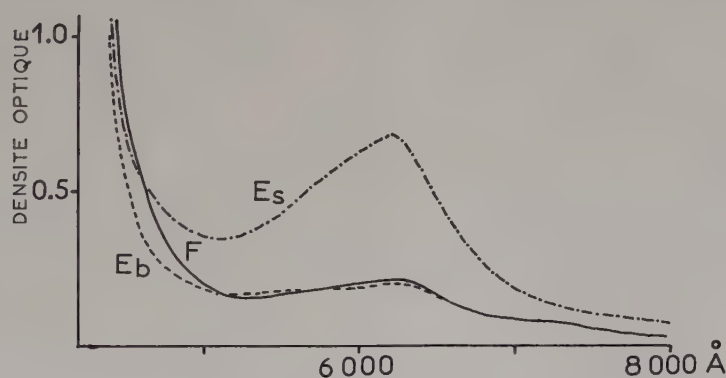


FIG. 5. — Courbes d'absorption obtenues avec les essais d'étalonnage pour le dosage des hydrates de carbone particuliers.

Le filtrat et le filtre sont placés en tubes de 30 ml. On ajoute 2 ml de suspension de carbonate de magnésium à 10 g/l, 18 ml d'eau distillée. L'ensemble est broyé et agité énergiquement et il est préférable de le garder à 0 °C pendant 20 heures. Après une nouvelle agitation, 2 ml de la suspension sont prélevés et placés dans un tube Pyrex de 20 ml dans lequel on ajoute 10 ml d'un réactif contenant 8 ml d'alcool éthylique pur, 30 ml d'eau distillée, 0,200 g d'anthrone mélangés à 100 ml de SO_4H_2 . Tous les tubes ainsi préparés sont placés dans une eau à 100 °C pendant 8 mn afin que la teinte se développe au maximum. On refroidit sous l'eau tous les tubes à la fois et après centrifugation à 6 000 t/mn pendant 15 mn on mesure l'absorption au spectrophotomètre.

Une solution contenant : 8 ml d'alcool éthylique pur, 30 ml d'eau distillée, 100 ml de SO_4H_2 est utilisée avec le même protocole que ci-dessus à la place de la solution similaire qui contient 0,200 g d'anthrone. On peut ainsi effectuer une mesure en rapport avec la pigmentation et la turbidité et qui servira de correction. Celle-ci, ainsi que les diverses corrections optiques classiques, sont déduites des densités optiques lues au spectrophotomètre.

En outre, un facteur F d'étalonnage est calculé en expérimentant de la manière suivante : dans chacun des quatre tubes utilisés on recueille après centrifugation et décantation, le carbonate de magnésium inclus dans 1 ml de la suspension puis on ajoute

dans deux tubes : 1 ml d'une solution standard de glucose (1)

dans deux tubes : 1 ml d'eau distillée (2)

puis dans chacun des quatre tubes 10 ml du réactif à l'antrone et on agite légèrement. Les tubes sont alors traités au bain-marie à 100 °C de la même manière que pour le dosage mais la centrifugation est bien entendu inutile ici.

D'après les auteurs : $F = 1\,000/E_s - E_b$ correspond aux définitions suivantes

E_s = moyenne des densités optiques avec solution standard de glucose (1)

E_b = moyenne des densités optiques avec eau distillée (essai à blanc) (2).

Le calcul des résultats est effectué d'une manière simple : $D \times F/V \times L$

où :

D = densité optique corrigée de l'échantillon

F = facteur d'étalonnage (voisin de 2 000)

V = volume de l'eau filtrée en litres

L = champ optique des cuves utilisées en cm (généralement cuves ≤ 1 cm)

Hydrates de carbone particuliers des vases superficielles.

Une adaptation de la technique précédente (HEWITT, 1958) a été nécessaire pour le dosage spectrophotométrique des hydrates de carbone particuliers contenus dans la vase superficielle. Nous avons indiqué plus haut comment celle-ci a été prélevée sur une épaisseur, avons-nous précisé, inférieure à 1/2 cm. Mise en flacon étanche et amenée au laboratoire la vase est répartie dans des boîtes de Petri avec un peu d'eau de la même provenance et elle reconstitue, après décantation pendant deux heures environ, le faciès benthique de la claire. Nous prélevons alors avec une pipette 3 à 5 ml dans les boîtes à la surface de la vase déposée et nous mélangeons celle-ci avec une eau de mer simplifiée exempte d'hydrates de carbone afin d'obtenir un volume total de 100 ml (1). Après une nouvelle décantation pendant 5 mn exactement on relève la quantité de vase par mesure de la hauteur H dans l'éprouvette (H en ml). Dès lors, après avoir homogénéisé l'ensemble par agitation on peut procéder au dosage, toujours en double, avec 1 ml de ce mélange selon la technique classique définie ci-dessus. Mais nous effectuons une centrifugation pendant 15 mn à environ 6 000 t/mn après avoir obtenu la réaction thermo-chimique à 100 °C en présence de la solution acide à base d'antrone qui permet l'apparition de la teinte caractéristique. Un autre dosage, également en double, est effectué parallèlement sur 1 ml du même mélange mais avec la solution acide *sans* antrone. Cette opération effectuée dans les mêmes conditions permet d'apprécier la correction relative à la pigmentation et à la turbidité résiduelles.

Dans le calcul des résultats on applique le même facteur F d'étalonnage déterminé pour 1 000 ml, mais on tient compte, bien entendu, de la quantité de vase mesurée dans les conditions expérimentales définies.

La formule que nous avons établie $D \times F/10 H \times L$ permet donc d'exprimer la quantité d'hydrates de carbone en µg de glucose contenue dans 1 ml de vase superficielle prélevée et mesurée selon notre protocole.

Il est important de préciser que ces mesures ont été effectuées d'une manière toujours identique et nous ne manquerons donc pas de souligner l'importance, surtout relative, des valeurs obtenues. La validité dépend alors de la reproductibilité ; or des essais répétés nous ont montré que sur deux prélèvements de la même claire une approximation des mesures des densités optiques corrigées de l'ordre de $\pm 0,05$ peut être obtenue, ce qui nous a paru très satisfaisant.

(1) Eau de mer synthétique simplifiée d'après STRICKLAND et PARSONS (1960) 25 g NaCl + 8 g MgSO₄, 7 H₂O = 28,0 S ‰.

4° Analyse spectrophotométrique des phosphates inorganiques dissous (phosphore sous la forme PO_4 désigné sous le symbole théorique de $(\text{PO}_4 - \text{P})$).

a) Références utilisées et principe des mesures. La plupart des techniques spectrophotométriques utilisent pour ce dosage la formation d'un complexe phospho-molybdique dont la réduction est obtenue différemment. La technique de ROBINSON et THOMPSON (1948) que nous avons expérimentée lors de campagnes océanographiques utilisait le chlorure stanneux. Certains auteurs ont fait des comparaisons de techniques existantes (ROTSCHI, 1960 ; JONES et SPENCER, 1963).

Avec toutes ces informations aidant notre propre expérience nous avons préféré la technique maintenant très usitée de MURPHY et RILEY (1962). Le principe en est le suivant : en présence d'acide sulfurique et de molybdate d'ammonium le phosphate inorganique soluble forme un complexe acide phospho-molybdique. Celui-ci est réduit par l'acide ascorbique utilisé ici comme réducteur à la place du chlorure stanneux et en présence d'antimoine il forme très rapidement (10 mn) un composé bleu qui contient de l'antimoine et du phosphore dans le rapport atomique 1/1. L'utilisation de l'acide ascorbique apporte une grande stabilité de la couleur et l'erreur expérimentale due aux chlorures est négligeable. De plus, aucune interférence n'est à craindre avec d'autres ions en solution : Fe, Si et Cu par exemple.

b) Technique expérimentale. La technique utilisée est de surcroît très pratique car elle permet l'utilisation d'une solution unique de dosage qui peut être conservée, comme nous l'avons établi, à 0 °C pendant 2 à 3 jours. Au-delà une légère modification de teinte perturbe l'essai à blanc donc tout l'étalonnage qui suit par ailleurs parfaitement la loi de Beer (1) de même que les échantillons traités.

La solution de dosage est préparée de la manière suivante, on mélange successivement :

125,0 ml : H_2SO_4 , 5 N

37,5 ml : molybdate d'ammonium à 4 %

75,0 ml : acide ascorbique 0,1 M

12,5 ml : solution tartrate de Sb et de K (2,743 g q.s.p. 1 litre)

250,0 ml

Ce réactif préparé au moment de l'emploi est utilisé à raison de 8 ou 10 ml pour respectivement 40 ou 50 ml de l'échantillon à doser ou de l'une des solutions standard d'étalonnage. Celui-ci est effectué en effet sans difficulté à l'aide d'une gamme de dilutions successives contenant du KH_2PO_4 en quantité connue et exprimée en $\mu\text{g.at.P/l}$ comme il est d'usage pour de telles mesures en eau de mer.

Pour notre part nous avons toujours fait deux étalonnages, l'un de 0 (essai à blanc) à 1,5 $\mu\text{g.at.P/l}$, l'autre de 1,5 à 10 $\mu\text{g.at.P/l}$, en raison des quantités variables de phosphore minéral qui peuvent être trouvées dans les eaux et pour permettre une meilleure précision dans la détection des faibles teneurs.

De ce fait nous avons utilisé soit une cuve de 100 mm de champ optique préférable pour les basses concentrations en phosphore, soit une cuve de 50 mm de champ optique pour les teneurs plus élevées.

Chaque échantillon d'eau de claire provenant du fond ou de la surface a toujours été filtré sur Gelman A en fibre de verre avant dosage. Dès leur arrivée au laboratoire les échantillons d'eau transportés en glacière ont été placés au réfrigérateur, le dosage n'intervenant toutefois jamais plus de trois heures après le prélèvement.

Nous devons préciser que nous n'avons jamais ajouté de chloroforme aux échantillons comme l'avaient recommandé les auteurs. En effet des travaux ultérieurs ont établi (JONES, 1963) que ce

(1) Loi de LAMBERT-BEER in CHARLOT (1961) : $D = \log \frac{I_0}{I} = e.l.c$. I_0, I = intensité du faisceau monochromatique

à l'entrée et à la sortie de la cuve ; e = coeff. d'extinction ; c = concentration du corps absorbant ; l = épaisseur de la solution (champ optique de la cuve).

procédé augmente considérablement la teneur en phosphates inorganiques quand les eaux « contiennent beaucoup de plancton et de particules organiques ».

Quelques essais de mesure du phosphate inorganique ont été faits après désorption. Dans ce cas l'échantillon n'a été filtré qu'après adjonction de 1/2 ml de HCl pour 100 ml d'eau de mer et agitation, selon les indications de KETCHUM-RYTHET et coll. (1957).

Dans tous les cas enfin, la mesure spectrophotométrique a été effectuée à 8 820 Å, maximum d'absorption contrôlé du complexe phospho-molybdique réduit par l'acide ascorbique.

5° Analyses complexométriques du calcium et du magnésium dissous.

Nous avons effectué quelques dosages de Ca et Mg dans les eaux des claires avec la technique complexométrique DE SOUSA (1954) que nous avons modifiée sur certains détails.

a) Le principe consiste dans le titrage effectué à l'aide du sel disodique de l'acide éthylène-diamine-tetra-acétique (E.D.T.A.) employé comme réactif et de deux indicateurs colorés le murexide et le noir ériochrome T. Le calcium est dosé séparément, puis l'ensemble calcium-magnésium d'où l'on déduit ce dernier. Le titrage doit être effectué dans des conditions constantes de pH à l'aide de solutions tampon fréquemment vérifiées et ajustées.

b) Nous résumons ci-après la technique expérimentale utilisée.

Calcium. Le dosage est effectué sur 5 ml d'eau de mer filtrée sur Gelman A puis diluée à 100 ml avec de l'eau bi-distillée. On ajoute 10 ml d'une solution tampon à pH = 13 et 0,4 g d'un mélange homogène, murexide 0,2 g et NaCl 100 g. Avec le même indicateur et la même solution tampon on étalonne 5 ml dilué à 100 d'une solution à base de calcium (CO_3Ca , 1,248 g desséché à 110 °C et attaqué par HCl concentré q.s.p. 1 litre pour obtenir une solution de Ca à 0,5 mg/ml).

Magnésium + calcium. Le dosage est fait avec 10 ml d'eau de mer filtrée sur Gelman A. On ajoute 10 ml d'une solution tampon à pH = 10, 5 ml d'une solution de cyanure de sodium à 10 g/l et 0,5 ml d'une solution de noir ériochrome T (0,200 g dissous dans 50 ml d'alcool métylique pur + 2 g de chlorhydrate d'hydroxylamine). Avec le même indicateur, la même solution tampon et la même quantité de cyanure de sodium on étalonne le mélange, 5 ml d'une solution de magnésium + 5 ml d'une solution de calcium. La solution de calcium est la même que précédemment, la solution de magnésium à 1 mg/ml est obtenue avec 10,140 g de SO_4Mg , 7 H_2O et eau distillée q.s.p. 1 litre.

Dans tous les cas nous avons utilisé la même solution de E.D.T.A. disodique à 18,605 g q.s.p. 1 litre placée dans une burette automatique graduée au 1/20. La quantité de complexon utilisée comme réactif est proportionnelle à la teneur en Ca d'une part en Ca + Mg d'autre part et est en rapport avec le titrage effectué ; un calcul simple permet d'obtenir en g/l la teneur en calcium et en magnésium dissous.

Nous devons préciser que la technique de Sousa a été utilisée avec les modifications suivantes.

La solution tampon à pH = 10 à base de NH_4OH et NH_4Cl , a été remplacée, dans le but de faciliter les manipulations, par une solution ainsi préparée (PATE et ROBINSON, 1961) : 27,5 ml de HCl — 12 N diluée avec 200 ml d'eau distillée. On ajoute en agitant 155 ml de mono-éthanola mine et de l'eau distillée q.s.p. 1 litre après refroidissement. La solution à pH = 13 est inchangée, 10 % NaOH.

Pour le dosage du Ca + Mg nous avons ajouté du cyanure de Na « pour éliminer l'interférence des autres ions présents » (ANONYME, 1968). La solution a été préparée selon SZABO (1967). Les titrages et les étalonnages ont été effectués en double et sous un éclairage constant.

6° Techniques diverses utilisées.

Les premières mesures de la température nous avaient montré la variabilité importante de ce facteur dans l'eau des claires. La recherche d'une grande précision nous était donc apparue superflue et d'ailleurs il aurait été impossible d'utiliser un thermomètre à renversement comme ceux employés en océanographie physique. Nous avons donc utilisé un thermomètre simple (— 6 ° à + 53 °C) très sensible. Il est généralement difficile de plonger partiellement le thermomètre dans

l'eau d'une claire en même temps que de le lire. Le bon sens invite donc tout naturellement à mesurer la température dans un grand volume d'eau fraîchement recueillie en se plaçant à l'abri du vent et du soleil. Mais pour être comparable la température de l'eau des claires a toujours été relevée aux mêmes heures de la matinée.

Les échantillons prélevés en vue de la détermination de la salinité ou simplement de la chlorinité étaient transportés au laboratoire. La mesure était faite sur deux prélèvements différents et à titre expérimental pendant une longue période, dans l'eau de surface et dans celle du fond. Les déterminations de la salinité ont été effectuées à l'aide d'une solution à 13,625 g/l de NO_3Ag ⁽¹⁾ périodiquement contrôlée à l'aide de l'eau normale de Copenhague selon la technique classique de Knudsen (THOMPSEN, 1948).

Les mesures de la pluviosité proviennent des observations météorologiques quotidiennes du laboratoire de La Tremblade.

Enfin les mesures héliographiques effectuées à La Coubre ont été transmises sous le contrôle et avec l'obligeance du Service régional de la Météorologie nationale. Précisons que l'héliographe utilisé était du type Campbell-Stokes, appareil agréé par les conventions internationales ⁽²⁾.

Beaucoup de travaux dans ce mémoire font appel à diverses techniques de calcul statistique et notamment de biométrie avec lesquelles nous avons pu précédemment nous familiariser au cours d'un précédent travail (MOREAU, 1964). Nous mentionnerons donc simplement les principaux ouvrages, bases de notre documentation et des calculs exposés ici (MORICE, 1947, et LAMOTTE, 1957).

III. - Examens biologiques et microscopiques.

Pour être comprise, et comparable à divers paramètres, la quantité d'individus de *Navicula ostrearia* B. devait être exprimée mathématiquement. De même quelques recherches préliminaires font état dans ce mémoire de la flore planctonique. Dans l'un et l'autre cas un dénombrement était nécessaire, soit pour rendre compte d'un pourcentage, soit pour exprimer une valeur absolue.

Nous avons donc fait appel à la technique de détermination de la quantité de larves d'huîtres dans le plancton en usage à l'I.S.T.P.M. qui a été explicitée par LAMBERT (1935) et que nous pensons utile de citer *in extenso*.

« Le plancton est dilué dans une fiole graduée à un volume variable (20 à 50 ml) suivant son
« abondance ou sa richesse présumée en éléments à dénombrer. Le mélange agité très énergique-
« ment pour dissocier les éléments agglutinés entre eux, on en prélève rapidement un petit volume
« et on dépose une ou deux gouttes au milieu d'une cellule de 15 mm de diamètre sur 1 mm de
« profondeur, graduée au moyen de traits distants de 1 mm. On recouvre cette cellule d'une lamelle et
« on l'examine au grossissement 14 pour l'objectif et 9 pour l'oculaire, on procède à la numération
« des larves, puis on mesure le volume de la goutte en comptant le nombre de carrés recouverts.
« Le quotient du nombre de larves par le nombre de carrés donne la quantité d'embryons contenus
« dans 1 mm³ de liquide examiné. On rapporte les résultats à un coup de filet de 15 mn (compte
« tenu de la vitesse du bateau). Soit K le nombre de petits prismes représentant le volume de 1 cm³ ;
« t la durée de la pêche ; d la dilution en cm³ ; n le nombre moyen de larves par prisme. La for-
« mule suivante donne le résultat final $N = K \times n \times d \times 15/t$. Cette technique peut être appliquée
« sans modification dans son principe à la numération d'un élément quelconque de microplanc-
« ton... »

Dans le cas de la détermination du nombre d'éléments phytoplanctoniques nous avons traîné un filet à plancton (70 - 75 μ entre les mailles) attaché à une perche dans les 15 cm juste au-dessous de la surface sur une distance toujours constante d'une cinquantaine de mètres en nous déplaçant sur l'abotteau de la claire. Compte tenu de l'ouverture du filet et de la masse d'eau ainsi traversée il a été facile de ramener le nombre N trouvé à un litre.

(1) Nous remercions Mme GARNIER du laboratoire de l'I.S.T.P.M. à La Tremblade qui a effectué sous notre contrôle les très nombreux dosages de salinité que nous lui avons confiés.

(2) Nous tenons à exprimer notre gratitude à M. BOISRAMÉ, Directeur de la Station météorologique de La Rochelle, qui a bien voulu nous donner toutes précisions utiles à notre travail.

Les prélèvements de vase contenant des organismes benthiques ont été effectués comme il a été indiqué au début de ce chapitre. Nous avons alors prélevé dans l'échantillon recueilli et bien mélangé avec de l'eau de la même claire quelques ml dilués dans une eau de mer préalablement filtrée et indemne de tout organisme planctonique ou benthique. Nous avons alors procédé selon la technique de Lambert en retenant, non le nombre de carrés toutefois supérieur à 100, mais le nombre correspondant d'organismes y inclus à dénombrer. Nous avons toujours relevé dans les mêmes carrés le nombre total d'organismes phyto-benthiques ainsi que le nombre de *Navicula ostrearia* à l'état pigmenté et non pigmenté. Le pourcentage de *N. ostrearia* par rapport à l'ensemble nous donnait une indication mathématique valable de l'état de verdissement de la claire qui a été très utile dans nos recherches.

Toutefois nous n'avons jamais formolé les prélèvements comme cela est naturellement en usage dans la numération des larves d'huîtres. La fragilité de la pigmentation de *N. ostrearia* nous l'interdisait et ses déplacements lents sur la lame n'étaient pas de nature à perturber les résultats. Par ailleurs le comptage des navicules ne pouvant être effectué tout de suite, l'échantillon était placé à l'obscurité et à une température voisine de + 5 °C pendant quelques heures ce qui n'affectait en rien les résultats. En outre, pour ne pas nuire à l'approximation des mesures nous avons tenu compte de la vie coloniale des certaines diatomées (*Melosira*, *Bacillaria*) et de la diversité des tailles qui peut être parfois importante (certaines espèces du genre *Navicula* par exemple).

Navicula ostrearia a été l'objet de certaines recherches afin de préciser sa composition en chlorophylles, sa teneur en hydrates de carbone ou bien pour permettre l'établissement de courbes d'absorption dans un solvant acétonique par exemple. Dans tous les cas un isolement de cette espèce était indispensable et la technique utilisée doit donc être précisée.

L'observation d'un prélèvement superficiel de la vase des claires placé, comme nous l'avons dit, en boîtes de Petri, permet de remarquer, aussitôt après la décantation du prélèvement, un photo-tropisme positif de la flore de diatomées qui n'a en soi rien que de très normal. Mais quand nous avons eu la bonne fortune de trouver une claire particulièrement riche en *N. ostrearia* pigmentée et pauvre en toutes autres espèces, ce qui heureusement n'est pas rare, nous avons pu remarquer que cette navicule particulière est douée, sa mobilité aidant, d'un photo-tropisme positif plus rapide que toutes les autres diatomées. Dans ces conditions elle vient se fixer sur la paroi de verre exposée à la lumière avant les autres espèces. Ce phénomène peut d'ailleurs être observé à l'œil nu et un prélèvement sur la paroi examiné au microscope le confirme facilement.

Dans ces conditions il suffisait de mettre à profit ce tropisme sélectif pour isoler *N. ostrearia* pigmentée ou non qui se comporte identiquement dans les deux états. Nous avons donc procédé de cette manière : *N. ostrearia* est prélevée avec la pointe d'un scalpel et placée dans une goutte d'eau de mer, de préférence sur une cellule de numération recouverte d'une lamelle. Dans les meilleures conditions chaque prélèvement ne contient que *N. ostrearia* pigmentée, en d'autres cas il se trouve une proportion d'individus non pigmentés. L'emploi de la cellule permet à chaque fois d'établir le pourcentage. Chaque prélèvement suivi d'un examen détaillé au microscope est répété autant de fois qu'il est possible et nécessaire et nous prenons la moyenne des résultats obtenus. Après dénombrement ces navicules sont placées dans un tube avec de l'eau de mer filtrée. Bien entendu, tout prélèvement douteux est impitoyablement rejeté, par exemple s'il se trouve un certain nombre d'autres diatomées très différentes.

L'eau contenant les navicules isolées est alors filtrée sur un filtre Gelman A en fibre de verre et le filtrat obtenu permet, selon les techniques déjà précisées, soit l'analyse relative des chlorophylles et leur courbe d'absorption en solution d'acétone, soit la détermination de courbes d'absorption dans une solution à base d'anthrone pour l'étude des hydrates de carbone particuliers.

Lorsque le prélèvement ne contient aucune *Navicula ostrearia*, ce qui est plus fréquent, le photo-tropisme positif a pu être utilisé pour l'isolement d'autres diatomées telles *Pleurosigma*.

Enfin la détermination relative des chlorophylles *a*, *b* et *c* a pu être faite sans difficulté dans diverses algues multicellulaires à l'aide de la technique trichromatique déjà exposée et après lavage à l'eau de mer filtrée des fragments prélevés et adjonction de carbonate de magnésium.

Conclusion.

Nous avons exposé dans le chapitre III l'ensemble des techniques utilisées dans nos recherches.

Un aspect de nos travaux ne manquera peut être pas d'attirer l'attention dans les chapitres qui suivent ; nous voulons parler de l'*intermittence* des prélèvements, des observations et des mesures de tous ordres et nous tenons à en donner les raisons. De même qu'il ne viendrait pas à l'esprit de tout chercheur océanographe, travaillant alors en équipe, de faire une étude ininterrompue pendant une ou plusieurs années sur une région du plateau continental océanique, de même une étude exhaustive *in situ* des phénomènes de verdissement et plus généralement des claires nous est apparue impossible et même inutile. D'autres, avant nous, ont apporté leur contribution ajoutée à nos propres examens préliminaires. La périodicité de la vie de chaque claire, le caractère saisonnier des phénomènes qui s'y déroulent sont connus. Les possibilités de l'expérimentation, surtout lorsque celle-ci est par nécessité simultanée en plusieurs claires, seraient suffisantes pour justifier l'obligation non d'une recherche étalée *in situ* qui n'aurait amené que peu d'éléments nouveaux sur un problème particulier, mais bien plutôt celle d'une recherche continue aussi serrée que possible avec un ou plusieurs objectifs afin de définir les particularités que nous recherchons pour la période *a priori* la plus favorable.

Et puis il ne faut jamais perdre de vue la nature même des claires, milieu temporaire s'il en est parce que mis en eau périodiquement. Pour réussir, l'expérimentation *in situ* était bien contrainte, dans le cadre d'un Institut de recherches qui a pour vocation de servir une Profession, de tenir compte des usages traditionnels, des besoins et des souhaits de ceux pour qui elle est destinée et qui ont mis des claires expérimentales à notre disposition ⁽¹⁾.

CHAPITRE IV

ÉTUDES ET RECHERCHES SUR LES CLAIRES DU BASSIN DE MARENNES-OLERON

L'expression « claires à huîtres », déjà employée, mérite une définition. Il faut préciser en effet que l'huître portugaise *Crassostrea angulata* LMK qui constitue la principale espèce du bassin séjourne en claire à deux fins différentes.

1) *Pour le verdissement seul*, elle provient des parcs d'engraissement et ne reste en claire que le temps qui lui est strictement nécessaire pour colorer ses branchies par la marennine. Ces huîtres dites « de claire » sont mises à verdir à raison de 20 à 30 au m². Elles y restent quelques semaines ou quelques mois.

2) *Pour l'élevage et le verdissement*, l'huître de demi-élevage prélevée sur les parcs est mise en claire en avril-mai c'est-à-dire au début de la saison de croissance. En même temps qu'elle verdit elle se charge de glycogène et prend une saveur plus caractéristique. Elle devient ainsi l'huître dite spéciale placée en claire à raison de 4 ou 5 au m². Un petit nombre d'huîtres plates *Ostrea edulis* L. provenant des parcs d'élevage de Bretagne est aussi mis à verdir mais dans les claires recevant une eau de salinité supérieure et à raison de 2 seulement au m². Toutes ces huîtres effectuent en claire ce qu'on appelle l'affinage. Elles sont généralement retirées à la fin de l'année ou au début de la suivante, c'est-à-dire au moment de l'expédition.

(1) Que les nombreux ostréiculteurs qui ont bien voulu, dans la région, nous permettre l'expérimentation et les prélèvements dans leurs claires veuillent bien trouver ici le témoignage de nos remerciements.



FIG. 6. — Vue aérienne de l'embouchure de la Sèvre, prise le 16 mai 1964 (photo I.G.N.).

Par ailleurs on ne peut étudier la pigmentation de *Navicula ostrearia*, ses conditions de développement *in situ* sans une connaissance préalable des claires à huîtres. Nous avons donné ci-dessus une vue d'ensemble du bassin de Marennes-Oléron et nous avons situé les claires dans leur contexte local. Il convient maintenant de préciser les particularités de celles-ci, d'en donner les caractères pédologiques connus et d'exposer les aspects dynamiques des claires, c'est-à-dire leur vie propre, nous dirons même leur « physiologie » qui s'exprime dans leur individualité structurale, hydrologique, bathymétrique et bionomique.

I. - Les claires et leur réseau d'alimentation.

La figure 6 montre, en vue aérienne, les claires situées à l'embouchure de la Seudre. Cette photographie est inscrite dans le quadrilatère porté sur la figure 1. Prise à l'échelle de basse mer, par coefficient de 77, elle permet de distinguer un ensemble de chenaux affluents de la Seudre. Ceux-ci se subdivisent pour alimenter les champs de claires parfaitement discernables. Mais nous laisserons à CHAUX-THEVENIN (1939) le mérite de l'excellente description qu'il a faite. « Les claires, dit cet auteur, sont des bassins creusés dans les terrains très plats et argileux... Un système compliqué de *chenaux* et de *ruissons*, leurs affluents, permet d'alimenter les claires en eau de la mer. Cette alimentation se fait aux grandes marées de quinzaine (dites *malines*). Il suffit en général que le coefficient de la marée soit supérieur à 80 ou 90 pour que les claires puissent s'alimenter. A marée basse *ruissons* et *chenaux* permettent de les vider quand il est nécessaire... La profondeur des claires est faible, leur forme est variée... La communication avec les *ruissons* se fait au moyen d'une *dérase*, sorte de créneau existant sur la bordure (ou *abotteau*) de la claire. L'eau passe par cette dérase ou submerge complètement la claire suivant le degré de marée. La dérase peut être plus ou moins élevée ce qui permet de conserver plus ou moins d'eau dans la claire.

La superficie moyenne des claires est de quatre ou cinq ares mais elle peut être beaucoup plus faible ou au contraire beaucoup plus grande (jusqu'à 12 ares).

Les claires sont généralement groupées en *prises* entourées de digues insubmersibles ou *taillées*. Ces prises sont munies d'écluses ou *varaignes* permettant de régler l'alimentation des claires dans leur ensemble. Chaque claire est constituée par un bassin comportant une digue de ceinture (l'*abotteau*), une large partie centrale unie (le *platin*) et une partie un peu plus creuse entourant le platin au pied de l'*abotteau* : c'est la *doue*. »

La figure 7 montre un vaste champ de claires situé sur la rive gauche de la Seudre au bas de la photographie aérienne (fig. 6), et l'on remarque les *abotteaux* séparant les claires mises en eau, le chenal d'accès en avant-plan (vu à marée basse) et entre les claires un *ruisson* d'alimentation. La figure 8 reproduit des claires asséchées. On distingue le chenal et entre celui-ci et la claire de droite une partie plus basse ou *dérase*. Celle-ci, comme il a été dit plus haut, permet de régler la hauteur d'eau qui varie entre 20 et 60 cm. L'alimentation est, bien sûr, périodique, mais elle varie aussi suivant la position de la claire par rapport au niveau de la mer. Nous aurons maintes occasions dans ce mémoire de préciser l'importance de l'alimentation ou même de la submersion quand le niveau de l'eau arrive à dépasser le sommet des *abotteaux*.

II. - Le substrat et les sols des claires.

La partie NE du bassin ostréicole de Marennes-Oléron repose sur des couches jurassiques formant le centre d'un anticlinal dirigé du NO au SE qui, partant de l'île d'Oléron, sépare la Gironde de la vallée de la Charente. Dans la partie sud de cet axe orogénique précisé par GIGNOUX (1950) affleurent le Cénomanien, le Turonien et le Sénonien qui constituent la base crétacée actuelle de la région nord de l'extension maximale du golfe éocène d'Aquitaine. Le bassin ostréicole est recouvert d'alluvions quaternaires récentes sur lesquelles se superpose une argile ferrugineuse bien connue, les dépôts organiques classiques d'une zone d'estuaire et ceux d'origine malacologique (pseudo-fèces).

Cette définition schématique amène à préciser les sols particuliers des claires en tenant compte toutefois que les études pédologiques récentes sont particulièrement inexistantes. A la fin du siècle

dernier CHATIN (Ad.) et MUNTZ (1894) ont défini le sol des claires comme un milieu réducteur assez riche en ammoniacque sans traces de nitrates et de nitrites. Toujours d'après eux, la vase doit sa couleur au sulfure et au protoxyde de fer, le sulfate de chaux est en forte proportion mais le carbonate peut manquer ; l'oxydation est due aux micro-organismes et aux algues vertes. Nous précise-



FIG. 7. — *Vue générale des claires de la rive gauche de la Seudre (photo RADAR).*
A l'avant-plan, chenal d'alimentation à sec ; un ruisson est visible entre deux champs de claires.



FIG. 8. — *Champ de claires exposé au soleil après le parage.* En avant-plan, le chenal d'alimentation ; à droite, une claire montre une partie plus basse dans l'abbotteau correspondant à la dérase.

rons, à cette occasion, que ces auteurs attribuaient alors le verdissement à la nature ferrugineuse des fonds. En 1923 HINARD définit le sol des claires comme une vase molle issue de la coagulation du limon d'eau douce. C'est, à son avis, une argile ferrugineuse avec une petite quantité de calcaire et de magnésie. La vase superficielle et celle plus profonde ont, pour ce chercheur, des caractères voisins, cependant, la vase de surface se modifie constamment à chaque renouvellement de l'eau

et l'acide phosphorique est en quantités identiques à celles qu'on trouve dans de bonnes terres arables. Cette définition pédologique sommaire nécessite la description du travail auquel les claires sont soumises périodiquement. Chaque année est effectuée l'opération dite du « parage ». Elle consiste à recreuser les doues qui se sont comblées par suite de l'érosion des abatteaux. Cette opération a lieu au printemps et la vase prélevée est reportée sur ceux-ci (fig. 9). En outre la vase est



FIG. 9. — *Technique du parage de la claire.*



FIG. 10. — *Claire après dessiccation sous l'action du soleil.*

égalisée sur le platin où les huîtres ont été pêchées. Enfin tous les dix ou vingt ans, la situation et la nature de la claire fixant ce délai, l'opération du « repiquage » doit être effectuée ; le fond qui s'est exhaussé doit être recreusé. Après ces travaux la claire reste fermée et se déshydrate au soleil. Les craquelures de la vase séchée sont bien visibles sur la figure 10 qui représente, en avant-plan, le platin où les huîtres seront de nouveau placées, puis la doue où subsiste la marque du pas

des hommes et enfin l'abotteau qui a été reconstitué. Les ostréiculteurs font alors « boire » la claire quelques jours, c'est ce qu'ils appellent « la mise en humeur ». Puis l'eau est renouvelée et la claire est définitivement en état pour recevoir les huîtres qui sont simplement jetées sur le platin.

III. - La dynamique des claires.

Les claires à huîtres, milieu aménagé par l'homme pour profiter du phénomène naturel du verdissement, sont périodiquement modifiées et adaptées comme nous venons de le montrer. Alimentées par les eaux océaniques selon des normes particulières elles ne peuvent être assimilées à un milieu littoral commun. Semblables les unes aux autres elles accusent néanmoins les caractères locaux du bassin et nous relaterons ci-après ceux qui les définissent en nous référant aux observations générales que nous avons pu faire depuis plusieurs années particulièrement dans le domaine hydrologique.

1° Physico-chimie des eaux des claires.

La salinité et la température sont deux facteurs depuis longtemps reconnus comme prépondérants pour ce qui concerne particulièrement le métabolisme des huîtres (TROCHON, 1960, et TROCHON et MOREAU, 1963). Nous étudierons plus loin leur rapport éventuel précis avec le verdissement.

Du fait de son étendue et de sa faible profondeur une claire subit souvent des écarts de température importants. Ces écarts sont diurnes et nocturnes d'abord et se rapportent aux données climatologiques. Ils sont aussi saisonniers, depuis le printemps, moment du parage et de la mise en eau, jusqu'à l'hiver suivant, la température atteint des valeurs minimales diurnes ou nocturnes en hiver approchant le degré de congélation et des valeurs maximales diurnes situées entre 40 et 50 °C en été.

L'été, et plus généralement lorsque la journée est ensoleillée, la température augmente très rapidement dès le matin atteignant vers 14 h G.M.T. sa valeur maximale. En conjonction, la salinité et la température produisent de véritables courants de densité analogues, à une échelle moindre, à ceux connus des océanographes hydrologues. Mais ces mouvements d'eau tendent à établir non une stratification mais un mélange créant une homogénéité et une stabilité apparentes en période de non-alimentation d'un point de la claire à l'opposé, et de la surface au fond.

Les fluctuations de la salinité seules sont plutôt sous la dépendance du rythme des marées. Un apport salin peut venir de l'extérieur et augmenter la salinité de la claire lorsque celle-ci subit un fort régime pluvial. Inversement, les eaux d'alimentation, plus stables, peuvent atténuer les augmentations de la salinité dues à une insolation très forte au cours de l'été quand elles apparaissent en période de non-alimentation notamment. Il va de soi qu'au moment de l'alimentation des différences s'établissent alors provisoirement de la dérase jusqu'à l'extrémité opposée de la claire.

Mais les variations sont aussi géographiques et il est évident que les claires proches du bassin subissent moins les diminutions de la salinité que celles alimentées par la Seudre dans sa partie amont.

Quoi qu'il en soit il ne faut pas oublier que, comme l'indique PERCIER en 1967, une variation de 10 °C détermine pour l'eau de mer un changement de densité égal à une variation de 2 g de la salinité. La stabilité dont nous parlons n'est donc que très relative dans ce milieu.

Dans le cadre de la productivité des claires qui méritera une étude précise, nous examinerons plus loin les variations de la teneur en oxygène dissous découlant de la vie végétale. Notons seulement dès maintenant l'action de la température sur les valeurs de saturation en oxygène et sur les valeurs de pH pour lesquelles nous n'avons pu faire d'étude particulière (entre 7,7 et 8,4).

Malgré le caractère maritime tempéré du micro-climat du bassin de Marennes-Oléron les facteurs climatologiques généraux auxquels nous avons fait allusion plus haut ne sont pas négligeables. En effet il convient de signaler les augmentations importantes de la salinité de l'ordre de 5 à 10 ‰ qui peuvent exceptionnellement survenir au voisinage du fond lorsque la claire soumise à une température très basse se recouvre de glace sur quelques centimètres d'épaisseur (observations faites dans les claires 5 et 6 portées sur la figure 1, le 13 janvier 1966).

Un autre facteur influence le métabolisme des huîtres, c'est bien entendu la turbidité, conséquence inéluctable des mouvements de l'eau dus aux courants de marée et de la nature des fonds. Cette turbidité s'atténue considérablement quand la claire n'est pas alimentée. Elle est parfois excessive et elle est en tout cas variable d'une région à l'autre et d'une période à l'autre. Elle augmente souvent lorsque les claires sont alimentées en période de forts coefficients et l'introduction de prédateurs dans la claire l'aggrave notablement.

Enfin, en rapport avec la turbidité, les micro-particules en suspension plus nombreuses lors de l'augmentation des coefficients de marée sont porteuses d'éléments chimiques adsorbés qui se déposent sur le fond. Le phénomène physique d'adsorption est, partiellement tout au moins, réversible comme l'ont montré ROCHFORD (1951) et HALIM et MORCOS (1967) dans le cas des phosphates des eaux marines. Nous avons d'ailleurs pu obtenir par acidification sur une trentaine d'échantillons le phénomène inverse de désorption qui libère dans le milieu une partie du phosphore minéral adsorbé. Celui-ci varie entre 17,9 et 81,5 % du total (adsorbé + dissous). Toutefois nous n'avons pas trouvé de relation précise avec la turbidité optique mesurée au spectrophotomètre ni de rapport constant entre le phosphore obtenu par désorption et les fluctuations des marées.

En résumé, la physico-chimie de l'eau vue dans son contexte général apparaît importante dans la dynamique hydrologique des claires et dans la vie des huîtres. Nous nous sommes efforcés d'en tenir le plus grand compte dans nos recherches *in situ*.

En outre, et c'est pour nous essentiel, toute modification de l'activité du mollusque se traduit par un changement de son pouvoir de filtration (GRASSÉ, 1960). Par voie de conséquence la fixation de la marennine par les branchies subit des aléas et, à teneurs égales en navicules pigmentées, la vitesse de verdissement peut se trouver modifiée.

2° Biochimie des eaux des claires.

Les claires, milieu semi-fermé alimenté périodiquement, sont soumises à des fluctuations de la teneur en composants biogènes. Nous relaterons successivement les modifications de la teneur en phosphore, en calcium et en magnésium que nous avons suivies et nous exposerons également les variations générales qui interviennent dans les eaux pour les pigments chlorophylliens et les caroténoïdes non-astaciens.

1) Phosphore (sous la forme de phosphates inorganiques dissous $\text{PO}_4 - \text{P}$).

Cet élément a été dosé selon la technique précédemment exposée de MURPHY et RILEY (1962). Nous avons étudié la teneur en phosphates inorganiques dissous dans les claires du bassin ostréicole depuis 1965. Mais de septembre 1966 à janvier 1967 nous avons effectué des comparaisons avec les eaux de la Seudre (MOREAU, 1967). Les claires de référence étaient les claires 2 et 3 de l'Eguillate et les claires I et II de Daire (fig. 1) ; les échantillons de la Seudre étaient prélevés au milieu de celle-ci au NE de La Tremblade. Dans l'un et l'autre cas les prélèvements ont été effectués à quelques jours d'intervalle selon le protocole explicité ci-dessus (chap. III).

Nous avons porté sur la figure 11 les fluctuations des coefficients de marées dont l'amplitude générale est évidemment plus grande aux marées d'équinoxe qu'aux marées d'hiver, l'évolution de la teneur en phosphates inorganiques dissous dans l'eau de mer ; pour la Seudre au point de prélèvement indiqué, pour la moyenne des claires étudiées.

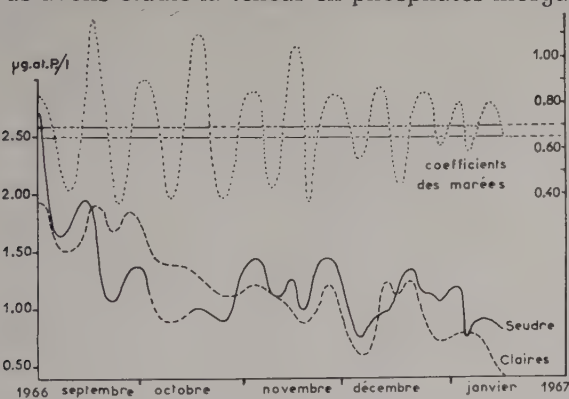


FIG. 11. — Teneur comparée en $(\text{PO}_4 - \text{P})$ exprimée en $\mu\text{g at.P/l}$, en Seudre et dans les claires de la région.

Pour la Seudre la teneur en phosphates inorganiques dissous, qui décroît généralement de septembre à janvier, accuse un maximum important chaque fois que les eaux du large pénètrent davantage dans le bassin, c'est-à-dire lorsque la submersion des zones littorales et des claires

s'accuse périodiquement par augmentation des coefficients. Ce phénomène est très régulier et traduit donc pour la Seudre un apport constant par les eaux atlantiques de phosphates inorganiques dissous. Par évaluation de la différence entre les valeurs maximales et minimales moyennes obtenues il a été facile d'estimer cet apport entre 0,15 et 0,52 $\mu\text{g at.P./l.}$

Pour les claires, qu'elles soient alimentées par la Seudre (à l'Eguillate) ou qu'elles soient en communication plus directe avec le bassin (à Daire), la teneur moyenne en phosphates traduit également cet apport extérieur. Mais le phénomène moins accusé qu'en Seudre subit évidemment quelques irrégularités du fait que les claires constituent, de par leur nature, un milieu particulier où les phosphates sont à la fois consommés et absorbés comme nous l'avons montré.

Cette intense pénétration des phosphates des eaux océaniques dans le bassin de Marennes-Oléron est mise en évidence (fig. 11). Elle indique dans cette région à forte production ostréicole et notamment dans les claires une surconsommation de l'élément phosphoré d'origine océanique et qui joue un rôle important dans la productivité primaire.

2) Calcium et magnésium (en relation avec $\text{PO}_4 - \text{P}$).

Ces deux éléments ont été dosés simultanément avec la technique complexométrique modifiée décrite au chapitre III. L'absence de toute indication de cette nature dans les claires nécessitait, là aussi, quelques études préliminaires lesquelles sans être, dès le départ, en relation quelconque avec le verdissement, permettaient au moins une meilleure connaissance bio-chimique de ce milieu (MOREAU, 1969 b). On connaît en effet l'importance de ces éléments. Le magnésium fait partie fondamentale

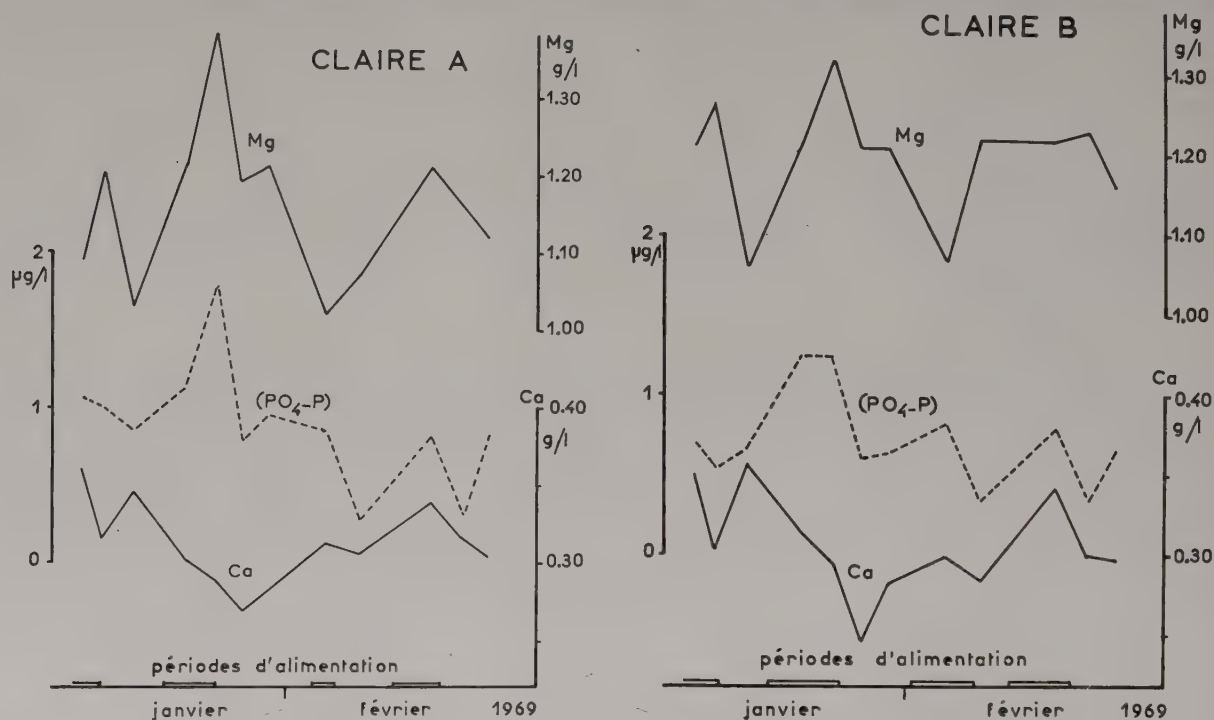


FIG. 12. — Variations simultanées en calcium, en magnésium et en phosphates inorganiques en période d'hiver ; claire A dite « haute », claire B dite « basse ».

des chlorophylles. Le calcium sous forme de calcite, d'aragonite et même au stade transitoire de vaterite, joue un rôle important dans la croissance des coquilles des huîtres (GRASSÉ, 1960). Nous chercherons donc à préciser dans ce paragraphe l'importance relative des ions Ca^{++} et Mg^{++} en rapport avec les données connues d'océanographie.

Par ailleurs les claires expérimentales utilisées sont les claires A et B portées sur la figure 1. Elles sont d'autant plus intéressantes qu'elles sont situées, comme nous l'avons dit, à un niveau diffé-

rent, la claire A dite « haute » a ses eaux renouvelées à partir d'un coefficient de 80 et la claire B dite « basse » est alimentée dès les coefficients de 65 - 70. Elles ont été observées simultanément et les résultats obtenus expriment pour chacune les valeurs moyennes surface-fond.

Les données recueillies au début de l'année 1969 ont été portées sur la figure 12 (a et b) et l'analyse simultanée des phosphates inorganiques dissous a permis des comparaisons utiles. Les résultats d'ensemble sont les suivants.

a) Les variations de la teneur en ($\text{PO}_4 - \text{P}$) exprimé en $\mu\text{g at.P/l}$ s'inscrivent dans les limites 0,250 et 1,760. Nous retrouvons en outre l'augmentation générale de teneur à chaque submersion de la claire comme nous l'avons précisé ci-dessus.

b) Le calcium (Ca^{++}) varie de 0,25 à 0,36 g/l. Ces teneurs sont très inférieures à celle de 0,40 g/l moyenne généralement attribuée aux eaux océaniques par les océanographes (PÉRÈS, 1963 ou PERCIER, 1967). Il n'y a pas de particularité remarquable à signaler dans l'évolution de la teneur en Ca^{++} soumise non seulement aux marées mais aussi à diverses modifications : apports terrigènes d'érosion par exemple en relation avec la nature du sol.

c) Le magnésium (Mg^{++}) varie dans les limites de 1,02 à 1,32 g/l. L'ensemble des valeurs trouvées est presque toujours au-dessous de la moyenne générale de 1,272 g/l attribuée aux eaux océaniques. La teneur en magnésium paraît très fluctuante et si on note une augmentation importante à certaines submersions, notamment en accord avec l'élévation de la teneur en ($\text{PO}_4 - \text{P}$), cette variation n'a pas de règle générale.

Le calcium et le magnésium sont représentés comme on le sait dans les eaux marines sous diverses formes, hydroxyde et carbonates par exemple. Leur teneur et leur solubilité en rapport avec le pH sont généralement liées à la chlorinité de l'eau (HARVEY, 1949). Nous avons donc jugé intéressant de comparer, ci-après, la valeur relative des rapports Ca/Mg , Ca/Cl , Mg/Cl trouvés dans les claires avec ceux moyens admis pour les eaux océaniques :

	Ca/Mg	Ca/Cl	Mg/Cl
Claire A	0,257	0,0200	0,0743
Claire B	0,259	0,0195	0,0740
Eaux océaniques	0,321	0,0215	0,0669

Par rapport à ces eaux, celles des claires étudiées présentent une déficience générale en calcium en rapport avec l'importante population malacologique du bassin. En outre nous avons constaté qu'à chaque chute de la teneur en calcium correspond une période où la pluviosité a été nulle, notamment du 3 au 6 et du 20 au 28 janvier, du 4 au 11 et du 15 au 20 février, les apports extérieurs de calcium sont déficitaires à ces périodes. Nous pensons que cette explication est la plus valable qui puisse être donnée pour l'interprétation de la figure 12.

Quant à la teneur, plus ou moins élevée en magnésium, elle n'est sans doute pas sans relation avec l'alternance d'une activité végétale intense et des phénomènes de biodégradation chlorophyllienne que nous préciserons : 1 à 26 % de Mg dans les chlorophylles (JAVILLIER et coll., 1959).

En tout cas les valeurs obtenues dans les claires A et B, bien que situées à des niveaux différents, sont parfaitement comparables entre elles. Cette constatation confirme, à tout le moins, la valeur d'échantillon que nous avons attribuée à ces claires.

3) Pigments chlorophylliens et pigments caroténoïdes.

Ces pigments, d'origine végétale ou *non-astaciens* sont ainsi appelés par opposition aux caroténoïdes d'origine animale « astacin-type caroténoids » dérivé éthymologique de *Astacus gammarus* (RICHARDS et THOMPSON, 1952).

Des analyses spectrophotométriques des chlorophylles *a*, *b*, *c* et des caroténoïdes non-astaciens ont été effectuées sur des échantillons des eaux des claires dès 1965. Ces recherches particulièrement déterminantes dans nos travaux sur le verdissement en claires seront explicitées plus loin. Nous ferons seulement état ici des observations préliminaires obtenues par un premier dépouillement des résultats et qui portent sur les valeurs moyennes trouvées en périodes d'été et d'automne des années 1965 et 1966. Les claires expérimentées sont celles de l'Eguillate numérotées 2 et 3 sur la figure 1.

Nous avons porté sur la figure 13 la teneur moyenne exprimée en $\mu\text{g/l}$ pour la chlorophylle *a* et pour les caroténoïdes non-astaciens. Les observations suivantes peuvent être faites : d'une manière générale la teneur en caroténoïdes non-astaciens est toujours inférieure à celle de la chlorophylle *a* qui constitue dans ces claires la plus grande partie des pigments chlorophylliens (50 à 55 %) ; par ailleurs la période automnale amène un ralentissement de la productivité résultant de la dégradation naturelle de ces pigments, ainsi la teneur en chlorophylle *a* qui atteignait 70 $\mu\text{g/l}$ au mois de juillet dans la claire 3 ou 55 $\mu\text{g/l}$ au mois d'août dans la claire 2, diminue pour ne plus dépasser 18 et 30 $\mu\text{g/l}$ en octobre et au début de novembre ; par la suite elle varie entre 6 et 16 $\mu\text{g/l}$.

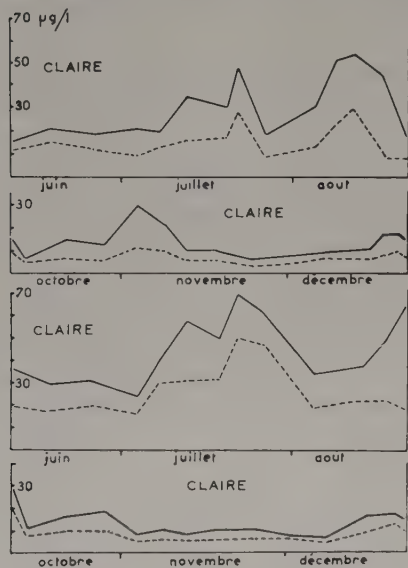


FIG. 13. — Variations simultanées de la teneur en chlorophylle *a* et en caroténoïdes non-astaciens (en $\mu\text{g/l}$).

A ce propos nous devons préciser que dans plusieurs notes (MOREAU et TROCHON, 1960, 1963) nous avons indiqué certaines normes de croissance pondérale d'*Ostrea edulis* dans les claires et établi la relation avec la productivité exprimée par la teneur en chlorophylle *a* (MOREAU et TROCHON, 1967).

En résumé, l'étude des eaux des claires portant sur quelques éléments constitutifs bio-chimiques ou biologiques nous a amené à préciser les variations de teneur en phosphates inorganiques, en calcium et en magnésium, en pigments dissous d'origine végétale. Respectivement, nous avons fait les comparaisons utiles entre la Seudre et les claires, entre une claire « haute » et une claire « basse », puis nous avons établi des variations biologiques saisonnières. A la lumière des résultats mis en évidence dans cette revue hydro-bio-dynamique nous pouvons maintenant effectuer une description essentiellement biologique des claires.

IV. - L'étude bionomique des claires et le verdissement.

Les diatomées caractéristiques des claires diffèrent de celles des eaux côtières, de la Seudre par exemple, où les *Biddulphia*, *Chaetoceros* et *Coscinodiscus* sont nombreux. Les diatomées des claires forment un tapis végétal dont la teinte observée sous le soleil varie du vert ou vert-brun au vert-bleu suivant l'état du verdissement. Cet aspect décrit par de nombreux auteurs du début de ce siècle (CALVET, 1909 ; CHAUX-THEVENIN, 1939 ; HINARD, 1923) faisait classer parmi les claires possédant des navicules pigmentées celles d'une teinte franchement verte qui n'en possédaient pas. On parlait alors de « fausse-verdeur » due à des genres divers de diatomées ou à des algues multicellulaires.

Ce n'est donc pas l'aspect de ce biotope particulier mais l'analyse des variations qualitatives des espèces d'origine benthique et planctonique en rapport direct ou non avec le verdissement, ainsi que l'influence des divers prédateurs zoologiques qui seront étudiées dans ce chapitre. Les éléments ainsi recueillis, en permettant une meilleure connaissance bionomique des claires, expliquent la méthode utilisée dans nos recherches.

1° La flore benthique et planctonique.

La flore est très importante dans les claires. Celles-ci largement exposées au soleil avec leurs eaux périodiquement renouvelées constituent un milieu propice au développement des végétaux constitués d'algues et pour la plupart de diatomées, leur prolifération, leur distribution et celle des pigments constitutifs méritent quelques études préliminaires nécessaires aux recherches qui font l'objet de ce mémoire.

a) L'examen simultané de la flore benthique et planctonique prélevée, comme nous l'avons indiqué chapitre III, nous avait permis dès 1961 de faire quelques observations introductives. Nous avons porté sur le tableau 1 en regard du nombre d'éléments phyto-planctoniques la valeur relative en fréquence de *Navicula ostrearia* et des autres diatomées, *N. ostrearia* étant exprimée en pourcen-

tage de l'ensemble des éléments benthiques. Un certain nombre d'examen effectués simultanément nous avait montré, comme l'indiquent les valeurs portées sur le tableau 1 : une diminution importante du nombre de *N. ostrearia* benthique dès lors qu'on obtient à l'état planctonique de grandes proliférations végétales ; parallèlement, la présence de *N. ostrearia* corrélative d'une diminution en nombre des autres diatomées benthiques et planctoniques.

Dénombrement des éléments phyto-planctoniques (Nb cellules/l)	Numération sur cellule des éléments phyto-benthiques		Teneur en chlorophylles totales en surface (unités Harvey exprimées en µg/l)
	<i>N. ostrearia</i> %	autres diatomées %	
120 000	0	100	45,72
137 500	1	99	31,06
119 400	2,5	97,5	21,42
98 750	3	97	21,35
18 000	15	85	9,00
15 800	25	75	4,70
1 250	40	60	0,95
1 300	42	58	1,60

TABL. 1. — Quelques observations préliminaires effectuées en 1963 et en 1964 sur des claires proches de La Tremblade et montrant la relation entre les flores planctonique et benthique et la teneur en chlorophylles.

b) La teneur en pigments obtenue alors simultanément aux données ci-dessus avec la technique d'Harvey (tabl. 1) nous avait permis de faire une observation alors provisoire : le verdissement de la claire, donc la présence de *N. ostrearia*, paraissait s'effectuer dans des conditions d'appauvrissement végétal. Cette constatation, quoique encore imprécise, n'était pas alors sans importance puisqu'elle

N° des claires		claires N.A.		claires A.	
3	dérase	21,12	13,14	14,27	8,50
	opposé dérased	21,17	12,96	15,01	8,76
5	dérased	65,06	30,05	8,03	10,36
	opposé dérased	62,61	22,90	13,25	17,61
6	dérased	7,68	15,12	7,49	3,12
	opposé dérased	7,61	11,10	8,15	3,17

TABL. 2. — Quelques exemples de résultats d'analyses spectrophotométriques des chlorophylles totales obtenues à la dérased et à l'opposé de la dérased dans la même claire (N.A. non-alimentée, A. alimentée).

fut à la base de l'orientation de nos travaux ultérieurs. En outre la flore benthique se reflète dans un échantillon d'eau et la teneur en chlorophylles paraît en rapport direct avec la quantité d'éléments végétaux unicellulaires. Ce sont là autant de faits nouveaux dans l'étude de la flore des claires. Dès lors s'imposaient quelques observations complémentaires de nature, ainsi que nous le verrons, à nous servir dans nos expérimentations.

c) La teneur en pigments étudiée avec la même technique, simultanément dans des échantillons de fond et de surface, nous permit d'établir une remarquable corrélation entre ces valeurs :

Surface		3,05	6,25	14,20	31,60	49,60	75,13
20-30 cm		3,10	6,12	14,00	31,10	48,90	76,10

Néanmoins, pour plus de précision et compte tenu de ces résultats, les prélèvements d'eau furent toujours effectués, non en surface, mais à quelques centimètres au-dessous, en évitant bien entendu de toucher le fond.

En tout état de cause, pour des valeurs très diverses allant de 3,05 à 76,10 $\mu\text{g/l}$ de pigments l'homogénéité verticale de la flore planctonique paraît établie dans les eaux des claires, limpides ou turbides, qui firent l'objet des prélèvements.

d) La teneur en pigments chlorophylliens à la dérase et à l'opposé et donc à profondeur constante fut mesurée au spectrophotomètre et nous avons porté (tabl. 2) les mesures obtenues sur trois claires différentes en période d'alimentation et de non-alimentation, l'apport d'eaux côtières paraissant a priori un facteur d'hétérogénéité des eaux. Ces expériences préliminaires effectuées au début de 1965 nous avaient montré des différences assez importantes de la dérase à l'opposé, surtout comme il fallait s'y attendre en période d'alimentation. Dès lors, et cela justifie le protocole exposé chapitre III, la nécessité de deux prélèvements opposés à profondeur constante apparaissait évidente pour obtenir les résultats valables nécessaires à une bonne interprétation.

e) La présence éventuelle de *N. ostrearia* à l'état planctonique dans les claires et particulièrement sous la forme pigmentée pouvait dans ces conditions nuire à l'interprétation objective des résultats. Dès lors, il convenait avant toute recherche sérieuse (MOREAU, 1969 c) d'établir non seulement la présence mais aussi la fréquence de *N. ostrearia* dans les eaux. Le tableau 3 récapitule

<i>Navicula ostrearia</i> en %		Nb de diatomées diverses par litre
Pigmentée	Non pigmentée	
0	1,60	87 300
0	3,73	10 700
1	20,00	5 100
0	7,00	31 400
0	4,00	713 050
6	48,00	915 850
10	60,00	556 000

TABL. 3. — Quelques exemples montrant la fréquence de *Navicula ostrearia* à l'état planctonique dans les claires.

un certain nombre de numérations de diatomées planctoniques effectuées dès 1963 avec des eaux de claires diversement riches en *N. ostrearia*. Nous avons constaté l'absence quasi totale de cette diatomée pigmentée à l'état planctonique alors que *N. ostrearia* sans trace de marennine est présente et nous en donnerons plus loin l'explication. Il importe pour l'instant de constater l'absence presque systématique de *N. ostrearia* planctonique et pigmentée. Les rares fois où nous l'avons observée correspondent à des claires très riches en flore de diatomées diverses planctoniques. Or l'expérience nous a montré que dans ce cas la claire n'est pas en état de verdissement intense. Il est donc plus sage d'attribuer la présence des navicules pigmentées à quelque incident de parcours du filet à plancton qui a pu, par son propre déplacement d'une masse d'eau, mettre en suspension des organismes benthiques.

Enfin il est important de souligner qu'au cours de toutes ces observations aucune diatomée autre que *Navicula* n'a présenté les phénomènes de pigmentation connus chez cette espèce. Avant nous, au cours de nombreuses années au laboratoire de La Tremblable, TROCHON (observation rapportée avec son autorisation) n'a trouvé aucune autre diatomée présentant ce phénomène. Celui-ci paraît donc spécifique de *N. ostrearia* contrairement aux affirmations de BACHRACH (1935) et en accord avec RANSON (1927), auteurs déjà cités.

f) La flore benthique et le verdissement. L'examen simultané du benthos et du plancton a montré l'homogénéité verticale de la flore de chaque claire et la répartition sensiblement égale des espèces provoquée par de faibles mais incessants mouvements de l'eau. Ces mouvements sont, soit des courants de densité dus, comme nous le savons, aux changements diurnes et nocturnes de température ou à l'effet des vents, soit des renouvellements périodiques conséquence de l'élévation des coefficients de marée.

La flore des claires est donc avant tout benthique et les diatomées en constituent l'essentiel ; *Amphora*, *Amphiprora*, *Pleurosigma*, *Nitzschia*, *Nitzschiella* pour ne citer que les genres les plus répandus. La flore peut occasionnellement comprendre certaines algues schizophytes inférieures telles que les oscillaires.

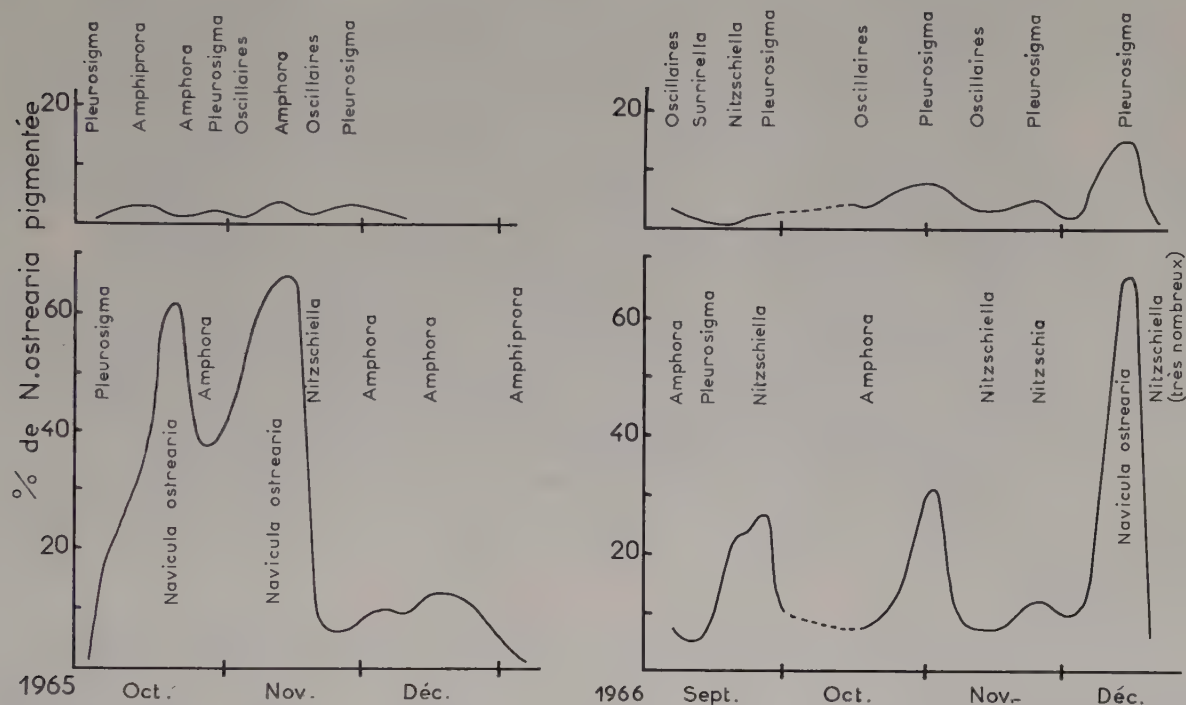


FIG. 14. — Evolution simultanée du verdissement et de la flore pour deux séries de claires en 1965 et en 1966. Le verdissement est exprimé en pourcentage de *N. ostrearia* par rapport à l'ensemble de la flore benthique.

La figure 14 représente pour la période d'automne des années 1965 et 1966 deux séries de claires différentes par le pourcentage de *Navicula ostrearia* pigmentée. Nous pouvons remarquer pour chacune de ces deux années que les claires les plus pigmentées sont dépourvues d'une majorité d'oscillaires. L'examen du benthos a même montré que celles-ci étaient absentes. Elles sont par contre assez répandues dans les claires les moins riches en *N. ostrearia* pigmentée et l'observation continue a montré que ces navicules disparaissent chaque fois qu'il est observé une prolifération de ces algues filamenteuses. Ce résultat est d'ailleurs en accord avec les recherches préliminaires exposées ci-dessus qui avaient montré une certaine simultanéité des développements chlorophylliens et de l'absence de la pigmentation de *N. ostrearia*.

Notons enfin qu'une trop grande hauteur d'eau favorise cette prolifération des oscillaires en freinant le développement de *N. ostrearia*. Cette observation ne sera pas sans intérêt pratique.

g) La répartition des chlorophylles diverses dans les algues des claires. L'observation sommaire de la flore macroscopique de Rhodophycophytes a montré la présence dans les claires à faible verdissement des espèces telles que *Ulva latissima* L. et *Polysiphonia elongata* HARV. chargées parfois de quelques diatomées épiphytes (*Licmophora*). Pour une meilleure connaissance des claires il

nous a paru intéressant de rechercher à l'aide d'analyses spectrophotométriques la répartition relative des chlorophylles *a*, *b* et *c* trouvées dans ces algues et dans le genre *Pleurosigma* le plus commun parmi les diatomées, en comparaison avec *N. ostrearia* non pigmentée. La répartition en pourcentage de ces chlorophylles a déjà été donnée dans un précédent article, il en résulte que la chlorophylle *b* ⁽¹⁾ provient presque exclusivement des algues multicellulaires dont les éléments (cladomes, phyllidies) se disséminent dans l'eau. Cette chlorophylle *b* à laquelle s'ajoute une xanthophylle à dominante jaune peut provenir, mais accidentellement, de la prolifération rapide d'organismes unicellulaires que nous avons déterminés comme étant des Euglénien. Les résultats, trop exceptionnels dans ce cas, n'ont pas été retenus dans la récapitulation.

En conclusion l'inventaire de la flore particulière des claires permet les observations principales suivantes.

1) Une prolifération intense de *N. ostrearia* est corrélative (fig. 14) d'une flore benthique très pauvre formée exclusivement de diatomées. De même, la non-apparition ou la disparition des navicules pigmentées est liée à une intense végétation où les algues multicellulaires sont souvent en majorité.

2) Les diverses chlorophylles proviennent de végétaux distincts ; si la chlorophylle *a* est la plus importante et d'origine diverse, la chlorophylle *b* caractérise surtout les algues multicellulaires et la chlorophylle *c* témoigne incontestablement d'une intense prolifération des diatomées benthiques.

2° La faune des claires.

Nous avons expliqué dans ce même chapitre ce qu'est l'opération saisonnière dite du « parage » de la claire. L'exposition de celle-ci au soleil aboutit à une dessiccation illustrée par des craquelures sur le platin et sur les abotdeaux, (fig. 10). Cette déshydratation permet de détruire la majorité des prédateurs, terricoles, limivores, saprophytes, qui ont pour effet, en ameublissant et en remuant le fond, de gêner *N. ostrearia* dans sa vie benthique et de perturber sa pigmentation. Ces prédateurs varient en nombre et leurs effets sont très différents.

Parmi les mollusques, le sourdon ou coque (*Cardium edule* L.), forme d'estuaire, s'introduit à l'état larvaire planctonique dans les claires sans y faire de grands dommages, sauf s'il est très abondant, en quelque cas il exerce une concurrence pour les huîtres. La figure 15 montre un exemple de l'amoncellement des coquilles de sourdons qui peut être remarqué sur le sol craquelé d'une claire après le parage.

L'Amphipode *Corophium volutator* P., appelé « termites » par les ostréiculteurs, est localisé d'après RANSON (1926) dans les claires hautes formées d'argiles calcaires. Un sol formé d'argile pure compacte ne permet pas, selon lui, à ces crustacés de creuser leurs galeries tubulaires. Ceux-ci peuvent de cette manière saper l'abotteau, mais ils ne prolifèrent jamais assez pour l'endommager sérieusement et en tout cas ils ne paraissent pas constituer un danger pour le verdissement dans les claires.

Les crevettes grises (*Crangon vulgaris* F.) sont parfois nombreuses comme nous avons pu nous en rendre compte dans la claire 3 (fig. 1). Ailleurs nous les avons observées souvent, quoiqu'en moindre nombre. Mais toutes nos observations n'ont jamais permis de déceler une perturbation du verdissement en cours.

De gros prédateurs peuvent s'introduire dans les claires à la faveur des submersions ; c'est le cas de poissons (*Mugil* et *Anguilla*). Ils produisent alors une turbidité excessive et, en mettant en suspension dans l'eau des organismes normalement benthiques, ils constituent un facteur défavorable à la pigmentation de *Navicula ostrearia*. A l'inverse, beaucoup de claires que l'on sait bien pigmentées (comme c'est le cas dans la région de Daire) ne présentent jamais ces perturbations dues à ces gros individus. Il est bon de souligner que ce résultat favorable est alors en accord avec la précaution qu'ont certains professionnels de placer un grillage en travers du ruisson d'alimentation ou à la dérase.

La faune d'une claire est sans conteste très variée ; sans rapport obligatoire avec le verdissement elle mériterait bien des études écologiques. Le plancton lui-même renferme souvent de nombreux

(1) Voir infra : tableau 11, fin chapitre VII. Répartition moyenne des chlorophylles.

ses formes larvaires, y compris d'huîtres et souvent en très grand nombre de Polychètes. Nous y avons également trouvé des essaims de Rotifères bdelloïdes. La présence d'Ascidies, énigmatiques pour bien des ostréiculteurs, et fixées le plus souvent à des casiers surélevés n'a pas lieu de surprendre. Le benthos renferme au milieu de sa flore variée des espèces zoologiques différentes ; il est fréquent de trouver des formes chitineuses (Nématodes et Crustacés) ou divers Protozoaires ciliés ou amiboïdes au milieu de populations malacologiques où les Prosobranches dominent.



FIG. 15. — Partie du platine d'une claire après parage et déshydratation sous l'action solaire ; des coquilles de *Cardium edule* L. morts pendant cette opération sont très visibles.

Tous ces organismes font partie intégrante de ce milieu encore peu connu que sont les claires. Ils n'ont sur le verdissement qu'une influence négligeable sauf lorsqu'une espèce prolifère anormalement créant un déséquilibre bio-chimique dont on ne sait encore apprécier tous les effets. Nous citons en exemple le cas de la claire 1 (fig. 1) qui en 1965, lors des toutes premières observations, avait montré une prolifération exceptionnelle rapide et considérable d'Eugléniens donnant à la claire un aspect jaune verdâtre inhabituel ; corrélativement la teneur en phosphates inorganiques dissous avait diminué de 33 % en deux jours, amenant simultanément une disparition totale de *N. ostrearia* déjà peu abondante.

Résumé et conclusion.

Ainsi apparaît l'importance considérable de la flore planctonique et benthique et ses liens étroits avec la caractéristique principale d'une claire définie par *N. ostrearia*. Des faits préliminaires essentiels ont donc pu être mis en évidence, ce sont :

la corrélation inverse entre la présence de *N. ostrearia* pigmentée et la flore planctonique ou benthique,

l'homogénéité verticale de la flore planctonique mais son hétérogénéité de la dérassée à l'opposé,

l'absence de *N. ostrearia* pigmentée à l'état planctonique et l'exclusivité de cette pigmentation propre à cette seule diatomée.

En outre la flore des claires est surtout benthique. Très développée dans les claires blanches, elle régresse quand *N. ostrearia* se pigmente. Elle est naturellement très liée au développement de la flore en rapport avec le verdissement.

CHAPITRE V

LA NAVICULE DES HUITRES ET SA PIGMENTATION

I. - Place dans la systématique botanique et description de *Navicula ostrearia* B.

Nous empruntons à CHADEFAUD-EMBERGER (1960) la classification générale des végétaux inférieurs dans laquelle se place *N. ostrearia*.

1 - Protocaryotes ou Schizophytes ;

2 - Eucaryotes ou Phycophytes :

Rhodophycophytes

Chromophycophytes ou Chromophycées

Chlorophycophytes (Algues vertes).

Les Eucaryotes ou Phycophytes sont caractérisés, contrairement aux Protocaryotes, par une organisation cellulaire typique. Le complexe pigmentaire chlorophyllien peut élaborer des inclusions protidiques ou pyrénoides. Les plastes pariétaux qui caractérisent en général les groupes les plus évolués sont régulièrement disposés dans la couche périphérique du cytoplasme. Les plastes focaux et plastidiaux moins répandus sont dirigés vers les foyers de polarisation. Les plastes cellulaires et les pyrénoides peuvent se diviser au cours des multiplications cellulaires. Les plastes chlorophylliens sont disposés en double paroi et ont la structure lamellaire connue au microscope électronique. Le caractère végétal des Eucaryotes est affirmé par la membrane glucidique de la cellule comprise dans une paroi pecto-cellulosique. Le complexe pigmentaire est formé de chlorophylles, de xanthophylles et de pigments caroténoïdes. Le rôle essentiel est joué par la chlorophylle *a* mais l'énergie lumineuse absorbée par divers pigments peut contribuer à la photosynthèse parce qu'elle est directement transférée à la chlorophylle *a*. Ainsi ces organismes sont autotrophes pour le carbone mais pas forcément pour l'azote de sorte que certains peuvent être plus ou moins saprophytes.

Dans les Chromophycophytes ou Chromophycées l'appareil plastidial est parfois masqué par d'autres pigments et aux chlorophylles sont souvent associés divers oxycarotènes jaunes ou bruns qui participent à la photosynthèse, l'énergie captée étant, là aussi, transférée à la chlorophylle. Mais le complexe pigmentaire est généralement constitué de chlorophylles *a* et *c* et parfois *e*, de β -carotène et de nombreux oxycarotènes. En outre, il peut exister des cellules reproductrices ou zoospores. D'après la structure des cellules nageuses reproductrices ou végétatives, la présence ou non d'amidon, la pigmentation et divers caractères évolutifs, on subdivise les chromophycophytes en plusieurs groupes parmi lesquels les Chrysophycées proprement dites, non amylacées, dérivées d'un groupe à cellules nageuses à plastes généralement bruns et à cellules végétatives.

La classe des Chrysophycées comprend entre autres familles celle des Bacillariophycées ou Diatomées. Celles-ci sont pourvues d'un squelette siliceux formé de deux valves disposées comme une boîte et son couvercle : l'épithèque et l'hypothèque. Ainsi les cellules de diatomées sont enfermées dans des coques bivalves ou frustules « de nature pectique et imprégnées de silice, vraisemblablement sous la forme d'une combinaison complexe avec un acide siliceux organique » (PÉRÈS, 1963).

Les diatomées, surtout marines, sont classées en deux groupes d'après la forme des frustules :

les centrales sont disposées symétriquement autour d'un point soit en ordre rayonnant soit en cercles concentriques ; certaines se reproduisent par oogamie ;

les pennales sont disposées symétriquement par rapport à un plan ; elles se reproduisent par cystogamie ; la famille des Naviculacées se place parmi les pennales.

Navicula ostrearia B. ainsi que d'autres espèces sont douées d'une motilité, sorte de reptation dans le sens longitudinal, liée soit à des changements osmotiques soit à la sortie de mucus ou de protoplasme par la fente ou raphé située dans l'axe polaire du frustule. Outre les pigments, les inclu-

sions cytoplasmiques sont certainement chez *N. ostrearia* du type des mitochondries ou des corps de Golgi auxquels s'ajoutent des corps physoïdes sortes de globules périnucléaires et des vacuoles à contenu lipo-glucidique réfringent. Le genre *Navicula* est connu pour sa reproduction cystogame, deux individus transformés en gamétocystes se conjuguent. Des mitoses réductionnelles engendrent deux gamètes par gamétocyste mais il se produit un phénomène d'anisogamie, un gamète mâle d'un gamétocyste se fusionnant à un gamète femelle d'un autre gamétocyste. Ainsi, théoriquement,

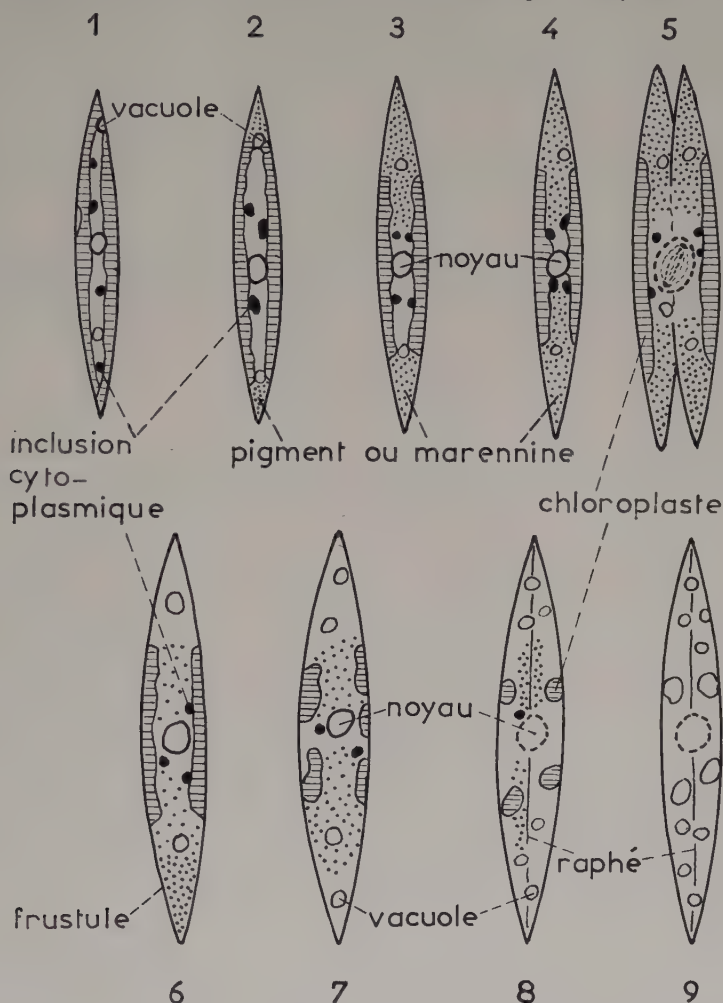


FIG. 16. — Croissance et division, évolution morphologique et pigmentaire de *N. ostrearia* dans la claire. En hachures horizontales, pigments chlorophylliens en chloroplastes, en pointillé, le pigment vert-bleu ou marennine.

chaque gamétocyste conjugué produit une auxospore. Cette forme de reproduction n'est pas sans ressemblance avec l'anisogamie de certains protozoaires ciliés où, malgré la production de microgamètes et de macrogamètes, la réorganisation nucléaire qui procède de la conjugaison est comparable.

Ajoutons nos propres observations à celles de RANSON (1943) pour faire la description morphologique de *N. ostrearia* B. Cet organisme autotrophe dont nous venons de définir la place dans la systématique est fusiforme « et mesure 62 à 130 μ de long sur 5 à 12 μ de large ». Nous admettrons provisoirement avec RANSON, faute de données pédologiques précises, l'influence possible de la nature du fond sur les dimensions générales de cette navicule, en la considérant toutefois au même stade de développement. *Navicula ostrearia* a été représentée (fig. 16) à différents stades sur les-

quels nous reviendrons. Retenons dès maintenant l'aspect général, la forme du frustule, la disposition pariétale des chloroplastes, la position centrale du noyau et la présence de diverses inclusions et de vacuoles intra-cytoplasmiques. Toutefois le nombre de vacuoles, nous l'avons observé, n'est pas constant et il dépend de l'état de la pigmentation qui commande le métabolisme. La morphologie et l'organisation de *N. ostrearia* n'est pas, en effet, uniforme comme nous allons l'exposer.

II. - Evolution morphologique de *Navicula ostrearia* B. et de ses pigments. Son cycle évolutif dans les claires à huîtres.

1) *Observations qualitatives et quantitatives portant sur la flore des diatomées des claires.*

Nous avons prélevé puis dénombré les éléments selon les techniques déjà explicitées. De même nous avons prélevé les échantillons de benthos, dénombré les éléments et isolé certaines espèces selon le protocole indiqué (chap. III).

Ainsi 74 prélèvements ont pu être faits en des claires a priori très différentes par leurs aspects géomorphologiques, hydrologiques, biologiques et même du fait de leur préparation mécanique. Le résultat global est le suivant :

- 40 % sans *N. ostrearia* planctonique ou benthique,
- 10 % avec *N. ostrearia* à l'état planctonique seulement,
- 15 % avec *N. ostrearia* pigmentée à l'état benthique,
- 35 % avec *N. ostrearia* pigmentée ou non à l'état benthique.

Dans le premier et le second cas, c'est-à-dire pour la moitié des claires expérimentées, il s'agit de claires dites « blanches ». Dans le troisième et le quatrième cas, il s'agit de claires dites « pigmentées ».

Ces résultats globaux nous avaient amenés à étudier de plus près la fréquence de *N. ostrearia* non pigmentée à l'état planctonique (tabl. 3), forme écologique des claires blanches sous laquelle cette navicule est généralement rare bien qu'elle ait été reconnue par RANSON (1927).

Tous les cas où cette navicule a été observée à l'état planctonique et non pigmenté correspondent à une période de submersion ou simplement d'alimentation de la claire observée. Nous pouvons donc considérer que les plus grandes proportions obtenues (48 à 60 % de *N. ostrearia* non pigmentée) correspondent à un état de « déverdissement » ayant entraîné un état de dégénérescence des navicules et coïncidant avec une importante prolifération des diatomées planctoniques. Dans tous les autres cas nous trouvons *N. ostrearia* non pigmentée avec les chloroplastes développés dans la proportion de 1,60 à 20,00 %. De toute évidence ces navicules viennent de l'extérieur de la claire et sont transportées par les eaux d'alimentation puisqu'alors les examens microscopiques du benthos n'ont montré aucune présence de *N. ostrearia*. Ainsi donc, ces navicules réensemencent périodiquement les claires. Il est en outre intéressant de noter que dans les eaux d'une claire non alimentée *N. ostrearia* pigmentée n'a jamais été décelée ; si elle l'est, cette exception confirmant la règle, nous avons pu constater qu'elle ne provenait que d'individus benthiques parfaitement repérés, et déplacés par le passage près de la surface du filet à plancton et le mouvement d'eau qu'elle provoque.

En résumé, toute claire même rebelle au verdissement est naturellement et périodiquementensemencée par le jeu des marées avec *N. ostrearia* qui parvient par les chenaux au gré des courants et qui s'introduit par la dérèse. Bien entendu ces navicules ne trouvent pas obligatoirement les conditions optimales propres à leur développement et à leur pigmentation. Par ailleurs, les claires situées à un niveau plus bas sont plus souvent et plus largement alimentées par les eaux contenant ces organismes dont le développement ultérieur est particulier et a fait de notre part l'objet de nombreuses observations pendant plusieurs années. Nous allons expliquer le processus des transformations morphologiques et pigmentaires en rapport avec le milieu, tel qu'il nous est apparu dans ses aspects généraux et essentiels.

2) *Evolution de la claire et de N. ostrearia.*

Des expériences préliminaires exposées (chap. IV) nous avaient montré avec une technique d'approche la simultanéité de l'apparition du phénomène du verdissement et de la disparition progressive de la flore planctonique et benthique.

a) Processus précurseur et aspect final du verdissement.

L'aspect de la claire présente une teinte verte à grisâtre suivant le terrain. Des frustules de diatomées diverses en nombre considérable s'amoncellent en surface et sont poussés dans une partie de la claire par une brise même légère. L'opération suivante, très significative, a été plusieurs fois effectuée : on prélève avec beaucoup de précaution l'eau de surface y compris les frustules ; dans le flacon ceux-ci restent en surface, une légère agitation les précipite au fond : on pourrait penser alors qu'ils étaient maintenus en surface par des gouttelettes huileuses vestiges des oléoplastes qui subsistaient sous une forme vacuolaire avec les frustules pecto-cellulosiques imprégnés de silice. Des reflets irisés en surface témoignent de la présence de matières lipidiques.

Par ailleurs nous avons souvent observé des claires très pigmentées au moment où le processus du verdissement commence à perdre de son intensité. L'eau de la claire, généralement très limpide, se charge en surface d'un amoncellement de plus en plus grand d'aspect détritique. Prélevé avec autant de précaution et examiné au microscope celui-ci montre alors un très grand nombre de *N. ostrearia* dont la majorité présente des signes manifestes de dégénérescence : accroissement des formations vacuolaires, diminution en volume des chloroplastes, perte du pigment caractéristique ou marennine dont les huîtres mises dans la claire ont largement profité, ce qui est facile à constater en voyant la coloration intense des branchies.

b) Les transformations de *N. ostrearia* dans la claire.

Les conditions optimales de développement étant réunies, *Navicula* se multiplie par bipartition (cystogamie) en même temps qu'elle acquiert sa coloration caractéristique. Il y a rétraction des chloroplastes qui finiront par disparaître amenant par la suite un état de sénescence et la mort consécutive au « déverdissement » de la claire. L'évolution de *N. ostrearia* dans la claire est reportée sur la figure 16 ; les phases que nous avons décrites y sont figurées de la manière la plus schématique ; ce sont les suivantes :

- 1 - Stade planctonique : chloroplastes développés, noyau bien visible.
- 2 à 5 - Stades benthiques (80 à 100 μ). Production pigmentaire et multiplication :
 - 2 - apparition du pigment bleu-vert aux extrémités du frustule ;
 - 3 - les chloroplastes se rétrécissent : le pigment se propage vers le centre où se rassemblent diverses inclusions cytoplasmiques ;
 - 4 - stade maximum de production du pigment qui s'étend jusqu'au noyau ;
 - 5 - phase de cystogamie pendant laquelle le noyau perd sa réfringence et devient moins visible ; cette division cellulaire survient quand la navicule a atteint le stade 3 ou le stade 4. Nous avons observé qu'à la phase active de production pigmentaire correspond une période d'élongation (100 à 110 μ) qui précède la division cellulaire.
- 6 à 9 - Stades benthiques : sénescence et mort :
 - 6 - les chloroplastes continuent à diminuer de volume ; le pigment bleu-vert qui a beaucoup diffusé à l'extérieur par le raphé devient plus clair et disparaît, souvent d'abord à une extrémité ;
 - 7 - les chloroplastes se scindent ; le pigment bleu-vert tend à disparaître en même temps qu'apparaissent de nouvelles vacuoles : le pigment disparaît d'abord, les chloroplastes ensuite ;
 - 8 et 9 - phases finales : noyau peu visible, chloroplastes réduits à des formations vacuolaires ; le cytoplasme dégagé de ses productions pigmentaires laisse apparaître le raphé. A ce stade la motilité s'est notablement atténuée. Le frustule est allégé par la perte de ses pigments et par ses productions lipidiques vacuolaires. *N. ostrearia* subit alors le sort dégénératif des autres diatomées qui l'ont précédée.

Il est intéressant de noter qu'un stade ressemblant à une division cellulaire a été maintes fois observé chez des individus paraissant dégénérés au point de vue pigmentaire. Ceux-ci ont alors plutôt l'apparence de gamétocystes et nous pensons qu'il s'agit dans ce cas d'une conjugaison dont les mitoses réductionnelles et la formation des auxospores n'ont pu encore être observées avec précision chez *N. ostrearia*. Ce processus assure ainsi la pérennité de l'espèce et sous cette forme de dissémination *N. ostrearia* revient à l'état de vie planctonique. C'est ce stade qui correspond très certaine-

ment à l'espèce *Navicula fusiformis* GR. décrite autrefois, notamment par RANSON (1935 a) et qui n'est en fait qu'une homonymie écologique de *N. ostrearia* B.

Ces observations nous amènent toutefois à faire des remarques concernant l'apparition ou la disparition de la navicule sur le fond de la claire. Ainsi, l'apparition s'effectue par taches distinctes proches ou éloignées des huîtres qui s'y trouvent. *N. ostrearia* peut n'apparaître qu'à une extrémité de la claire et se propager sur la surface totale. En tout état de cause l'apparition du phénomène est relativement lente et se poursuit généralement plusieurs jours. Au contraire, la dépigmentation de la claire, c'est-à-dire la disparition de *N. ostrearia* pigmentée, est plus rapide et certaines claires déverdisent en une journée ou moins. Mais le pigment émis et dissous dans l'eau se maintient plus longtemps si bien que les analyses spectrophotométriques, notamment en période de non-alimentation, sont souvent significatives d'une claire pigmentée alors que les examens biologiques de la flore benthique montrent une proportion importante et croissante d'individus de *N. ostrearia* en état de dégénérescence.

Lorsque toutes les conditions sont favorables le développement et la pigmentation de *N. ostrearia* paraissent donc en rapport avec cette diminution de la flore de diatomées benthiques et planctoniques que nous avons sommairement mise en évidence dans la claire ; nous nous proposons d'exposer des recherches plus poussées faites *in situ* pour expliquer ce phénomène. Mais d'ores et déjà on peut dire que la production du pigment bleu-vert appelé marennine succède à un appauvrissement végétal de la claire bien observable et décrit plus haut. Que devient dans ces conditions *N. ostrearia* sur le plan pigmentaire ? C'est à cette question que nous nous efforçons de répondre dans les lignes qui suivent.

III. - Essai de recherches fondamentales spectrophotométriques sur le complexe pigmentaire de *Navicula ostrearia*.

Des populations isolées de cette diatomée à différents stades de sa pigmentation ont fait l'objet de recherches particulières principalement fondées sur l'interprétation du quotient des densités optiques : D_{4300} et D_{6650} Å, qui correspondent aux deux maxima d'absorption de la courbe (ce rapport a en fait été utilisé sous la forme modifiée D_{4300}/D_{6630} comme nous l'avons précisé au chapitre III).

Interprétation des recherches.

Avant tout exposé, il est nécessaire d'expliciter le choix et la valeur expérimentale du rapport utilisé. L'étude du milieu méditerranéen a amené HERRERA et MARGALEF à expliquer la variation des populations phytoplanctoniques soit par un transport à partir d'une autre aire maritime, soit par une séquence ou apparition successive de groupes d'espèces : un maximum de diatomées puis un maximum de dinoflagellés par exemple (PÉRÈS et DEVÈZE, 1963). Le rapport productivité sur biomasse désigné sous le nom de « flux d'énergie » est un élément d'appréciation important des successions et a des liens étroits avec le rapport D_{4300}/D_{6650} ou indice de diversité qui exprime l'état physiologique des populations.

L'étude d'abord empirique de ce rapport (MARGALEF, 1961) a été faite indépendamment par divers laboratoires ou chercheurs tels le Centre d'Océanographie de l'Institut français d'Océanie ou les japonais TANAKA et coll. (1961) cités par PÉRÈS et DEVÈZE. L'importance de cet indice de diversité n'a pas échappé à ces derniers auteurs puisqu'ils lui ont accordé une place importante dans un précis d'océanographie biologique. Toutefois nous pensons qu'il convient, pour les détails d'interprétation, de se rapporter d'abord aux travaux de ceux qui l'ont mis au point, utilisé et expérimenté en diverses conditions d'ailleurs naturellement différentes du milieu sur lequel portent nos recherches.

MARGALEF (1963) indique que le rapport D_{4300}/D_{6650} est d'une grande utilité dans l'étude du plancton. L'absorption à 4300 Å a été choisie, précise-t-il, parce qu'elle correspond à l'absorption maximale de la mesure d'Harvey. Reconnaisant une valeur réelle à la densité optique à 4300 Å, cet auteur accorde à cet indice ou rapport la valeur d'une certaine allométrie chimique qui ne lui enlève pas de valeur intrinsèque puisqu'il varie avec régularité, avec les conditions ambiantes. De

plus, une valeur élevée de cet indice a pour cause, d'après lui, la présence de matériel détritique. La courbe obtenue avec du matériel phytoplanctonique de la zone photique présente un indice de 2,3-2,8 ; inversement la sédimentation dans les eaux océaniques profondes amène à des valeurs supérieures à 10 retrouvables dans des conditions exceptionnelles de surface. L'indice D_{4300}/D_{6650} n'est pas, toujours pour le même auteur, qu'une simple expression de l'état du phytoplancton, il permet de juger des conditions de l'écosystème complet.

JACQUES (1968) est d'accord avec MARGALEF sur l'utilité du quotient employé dans l'étude de l'écologie du plancton et il admet, comme nous l'avions fait nous-même, l'équivalence du rapport D_{4300}/D_{6650} . Pour ce dernier auteur également les valeurs élevées sont le signe d'un accroissement relatif des concentrations en pigments accessoires par rapport à la chlorophylle *a*. Ces fortes valeurs de l'indice permettent aussi de suspecter la présence de matériel détritique qui serait donc en augmentation relative par rapport au matériel photosynthétisant.

Or, la production de pigments détritiques correspond notamment pour les chlorophylles à l'élaboration de phéo-pigments largement décrits déjà (STRICKLAND, 1960). Le phénomène de dégradation ou de phéo-phytinisation aboutit, selon l'auteur, à diverses substances pigmentaires, telles que la phéo-phytine et la phéo-phorbide produites soit par substitution d'H au Mg, phénomène accéléré sous une forte lumière (photo-oxydation), soit plus généralement par action de l'enzyme chlorophyllase agissant sur le groupement phytol de la molécule.

Ainsi s'expliquent donc désormais le choix et l'interprétation des rapports que nous avons utilisés dans nos recherches :

le rapport des densités optiques à deux longueurs d'onde, c'est-à-dire l'indice D_{4300}/D_{6650} (chap. V),

le rapport des pigments, ainsi exprimé afin d'éviter l'interférence de la chlorophylle *b* absente chez les diatomées :

phéo-pigments à 4300 Å/chlorophylles *a* + *c* (infra, chap. VI).

Il ne semble pas inutile de rappeler que les valeurs des densités optiques utilisées directement ou indirectement par nous sont toujours des valeurs nettes puisque nous tenons compte des corrections optiques ou de turbidité. Cependant, l'interprétation que nous venons de donner ne serait pas entièrement explicitée si nous ne précisions la présence dans les échantillons naturels prélevés *in situ* à la longueur d'onde de 4300 Å de faibles quantités de chlorophylles *a*, *b* et *c* qui absorbent surtout à 6650, 6450 et 6300 Å longueurs d'onde auxquelles nous effectuons les analyses et de faibles quantités de protochlorophylles formes oxydées à l'origine des chlorophylles, de xanthophylles diverses et de caroténoïdes non-astaciens (isomères trans) dont l'absorption maximum à 4800 Å interfère légèrement sur 4300 Å (STRICKLAND, 1960).

Mais l'absorption la plus caractérisée à cette longueur d'onde est fournie par les phéo-pigments que précisément l'on ne retrouve pas dans les échantillons frais sur les longueurs d'onde habituelles de dosage des chlorophylles. Ce fait est très important et confirme la valeur accordée par divers auteurs à l'indice : D_{4300}/D_{6650} .

Transposé dans le milieu particulier des claires ce rapport prend toute sa valeur. Milieu semi-fermé ou ouvert périodiquement, les variations de la flore y sont considérables et nous verrons avec précision l'importance qu'y joue *N. ostrearia*. La prolifération des navicules pigmentées et de celles qui ne le sont jamais est périodique et elle alterne également avec une flore différente ; la figure 14 nous en avait donné une illustration. De telles successions sont comparables aux séquences écologiques définies plus haut. La claire devient ainsi un véritable écosystème où les successions biologiques définies par MARGALEF y prennent tout leur sens.

Ainsi apparaît la nécessité de l'étude des courbes d'absorption de *Navicula ostrearia* qui provoque, par ses variations pigmentaires, celles de l'écosystème qu'il définit.

Etude du complexe pigmentaire de Navicula ostrearia.

Les individus de cette navicule sont isolés selon la technique décrite au chapitre III puis placés dans une faible quantité d'eau de mer filtrée (quelques millilitres). Une ou plusieurs gouttes contenant ces individus sont examinées au microscope sur une cellule quadrillée et en utilisant la

technique de numération déjà indiquée nous avons pu établir sur 100 individus le nombre de *N. ostrearia* pigmentées ou non pigmentées.

Ainsi plusieurs populations de *N. ostrearia* différemment pigmentées sont filtrées sur filtre Gelman A en fibre de verre, le filtrat est dissous dans l'acétone à 90 % comme il a été indiqué (chap. III). Après centrifugation il est possible de construire les courbes d'absorption correspondant

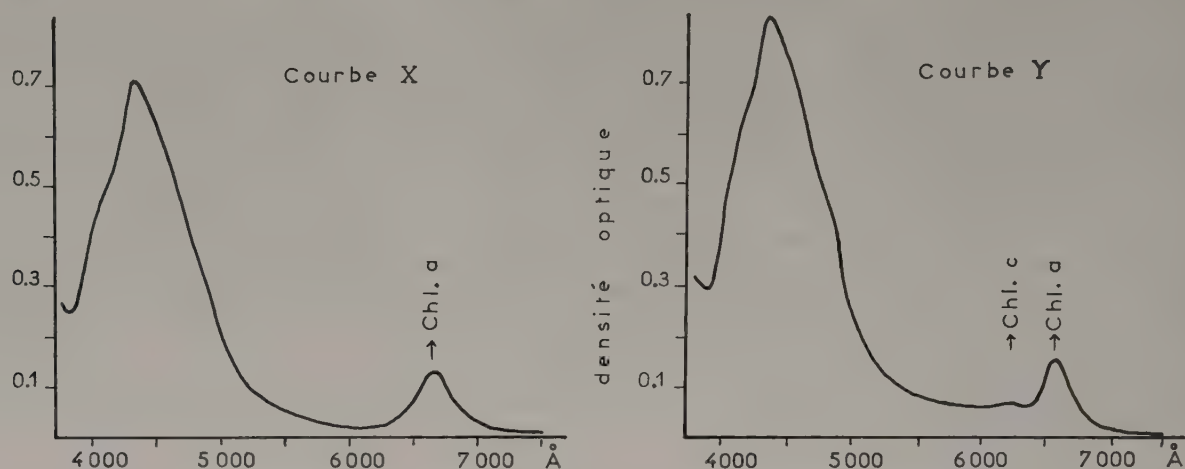


FIG. 17. — Courbes d'absorption dans l'acétone à 90 % de *N. ostrearia* à deux stades de sa pigmentation par la marennine.

à ces diatomées. Il est important de préciser que ces courbes sont chacune la moyenne résultante de deux populations dénombrées et traitées séparément. Les courbes d'absorption portées sur la figure 17 ont particulièrement mérité notre attention car elles précisent des différences remarquables propres à la diatomée elle-même sur laquelle aucun autre facteur n'interfère, différences qui se remarquent dans la teneur relative en chlorophylles *a* et *c* (tabl. 4). Le rapport chlorophylles/caroténoïdes non-astaciens y a été indiqué pour mémoire ; nous en retiendrons la différence des valeurs obtenues que nous expliciterons (chap. VI) en rapport avec les observations faites *in situ*.

Courbes d'absorption	<i>N. ostrearia</i> % pigmentée	Chlorophylles en % de (a+c)		Rapport Chl./carot.n.ast.	D_{4300}/D_{660} (dens. opt. corrig.)
		<i>a</i>	<i>c</i>		
X	100	100	traces non dos.	0,79	5,76
Y	35	71	29	0,97	5,25

TABL. 4. — Variations chez *Navicula ostrearia* diversement pigmentée de la teneur relative en chlorophylles, seule, et en rapport avec les caroténoïdes non-astaciens et de l'indice D_{4300}/D_{660} .

La courbe X est réalisée avec une population de *N. ostrearia* groupant des individus pourvus de marennine. La courbe Y est construite avec des *N. ostrearia* dont 35 % seulement des individus possédaient de la marennine. Les 75 % restant correspondent à des individus dont les chloroplastes en position pariétale, réduits mais non scindés, ne présentaient aucun signe de dégénérescence. Il s'agit donc d'individus n'ayant pas encore subi le phénomène de pigmentation ou de dégradation.

L'observation des données portées sur le tableau 4 permet une interprétation intéressante.

a) La pigmentation de *N. ostrearia* produit une diminution relative sinon une perte de chlorophylle *c* qui passe de 29 pour Y à 0 pour X (ou traces non dosables parce que à la limite de l'erreur expérimentale) si l'on considère que la quantité de chlorophylle *a* n'a pu que se maintenir il faut en effet admettre une réduction de la teneur en chlorophylle *c*.

b) Parallèlement, le rapport des densités optiques (D_{4300}/D_{6630}) passe de 5,25 pour Y, à 5,76 pour X suivant ainsi l'augmentation de la quantité de marennine incluse dans ces organismes.

Dans ces conditions on peut légitimement se poser certaines questions. La marennine serait-elle un pigment particulier de la diatomée et existant normalement caché par d'autres pigments ? Nous pensons répondre par la négative ; on s'expliquerait bien mal en effet la prolifération et la diffusion si importante de ce pigment à l'extérieur.

Mais ce pigment ou marennine qui, comme nous l'avons vu (fig. 16), augmente à mesure que les chloroplastes se rétrécissent, est-il alors un produit de dégradation des pigments chlorophylliens puisque l'augmentation de l'indice D_{4300}/D_{6630} peut être interprétée comme une certitude de l'apparition de pigments détritiques ? A ce point de l'exposé de nos recherches, nous pensons seulement pouvoir affirmer que la marennine apparaît comme un produit secondaire du métabolisme ; mais qu'elle semble en rapport avec des phénomènes de bio-dégradation et son origine détritique est probable.

Il convient de remarquer, car cela est important, combien il est difficile de conserver la marennine dissoute dans l'eau. Nous savons en effet depuis RANSON (1927) qu'on peut l'obtenir en solution aqueuse en laissant simplement pendant quelques heures un grand nombre de *Navicula ostrearia* très pigmentées dans une eau de mer préalablement filtrée. En prenant celle-ci comme référence nous avons pu établir la courbe de ce pigment en solution aqueuse afin d'établir les affinités éventuelles de la marennine avec la phycocyanine dont avait parlé BOCAT (1907). Or nous avons simplement obtenu une courbe à deux sommets : un principal à 4 000 Å et un secondaire à 6 550 Å sans rapport avec les caractéristiques spectrales d'absorption généralement attribuées aux chromoprotéines telle la phycocyanine dont le sommet le plus élevé est à 6 150 Å (STRICKLAND, 1960).

L'objet principal de notre mémoire restant un travail *in situ*, nous avons cependant envisagé la question de l'isolement et éventuellement de l'étude *in vitro* de ce pigment (1). La diffusion de la marennine à l'extérieur par le moyen du raphé et d'une membrane cellulaire semi-perméable ne peut se faire sans un mélange avec bien d'autres substances pigmentaires ou non, associées plus ou moins, faisant partie des diatomées et dont la variété est considérable (STRICKLAND, 1960). Des techniques avancées telles la lyophilisation pour la conservation des substances obtenues ou la chromatographie pour la séparation et l'isolement pourraient entraîner un progrès pour la solution de ce problème.

Résumé et conclusion.

Navicula ostrearia a une vie planctonique mais surtout benthique. Les observations faites ont permis d'expliquer la croissance et les modalités de reproduction qui s'intègrent dans un cycle écologique défini où la phase de pigmentation a pu être expliquée en rapport avec l'évolution et le comportement de la claire. Il est maintenant possible d'interpréter des courbes d'absorption différentes et d'analyser divers aspects du phénomène de pigmentation au sein même de *N. ostrearia*.

(1) Dans un article publié en décembre 1967 : Revue des Travaux de l'I.S.T.P.M. 31 (4), p. 375, il a été parlé de culture pure de navicules. En fait ce terme de « culture » est impropre car il s'agit de prélèvements effectués dans des claires à huîtres et non de clones entretenus, comme le lecteur n'aura pas manqué de s'en rendre compte. Il est en effet possible de récolter des échantillons dans lesquels *N. ostrearia* peut constituer pratiquement la seule diatomée que l'on puisse rencontrer. Naturellement de tels échantillons ne sont exempts ni de bactéries ni de protozoaires.

LE VERDISSEMENT DANS LES CLAIRES A HUITRES

L'étude de la pigmentation *in situ* de *Navicula ostrearia*, la recherche de l'explication de ce phénomène au lieu et dans les conditions où il s'effectue, paraissent en relation, ainsi que nous l'avons dit, avec la flore et plus précisément avec les pigments constitutifs des organismes végétaux des claires. D'autres substances telles que les hydrates de carbone peuvent, selon RANSON (1927), jouer un rôle dans le déclenchement ou le déroulement du processus biologique du verdissement.

Dans ce chapitre, nous préciserons donc les recherches faites sur les claires en nous basant sur trois thèmes :

les pigments des claires avec ou sans *N. ostrearia*,

l'évolution des divers pigments en rapport avec la présence et la pigmentation de cette navicule, la relation entre le verdissement et les substances hydrocarbonées.

I. - Pigmentation de *Navicula ostrearia* dans les claires.

La région de Daire, distincte de celle de la Seudre, possède des claires particulièrement réputées pour leur verdissement, l'intensité de celui-ci a pu y être appréciée en maintes circonstances et avant d'intensifier des recherches sur l'ensemble des claires du bassin qui nous étaient accessibles, il nous est apparu souhaitable de comparer les courbes d'absorption obtenues sur deux claires de cette région totalement différentes bien que voisines du fait de la présence ou de l'absence de *N. ostrearia* pigmentée sur le fond. Pour ces recherches les deux claires I et II de Daire ont été retenues. Toutes deux sont des échantillons valables de la région en ce sens que l'intensité de la prolifération des navicules pigmentées est en moyenne la même que toutes celles voisines où des sondages ont été effectués. Mais pour faire nos expériences nous avons choisi la période où, simultanément, l'une se trouvait riche en *N. ostrearia* pigmentée et l'autre s'en trouvait totalement dépourvue.

1) Le matériel utilisé et les résultats obtenus. Le matériel d'étude a été recueilli dans ces claires selon le protocole indiqué précédemment. C'est le filtrat obtenu dans chacune et sur 4 l d'eau prélevée dans des conditions identiques qui a permis, après dissolution dans l'acétone à 90 %, la construction de courbes d'absorption. Les prélèvements et les analyses furent effectués en période de non-alimentation puis répétés après une faible entrée des eaux de marée qui n'avait pas modifié le nombre et la pigmentation de la navicule. Les résultats obtenus étant identiques, les courbes d'absorption pour chaque claire constituent une valeur moyenne (fig. 18).

Le complexe chlorophyllien (a + c) est déterminé à l'aide de la technique trichromatique déjà décrite et chaque chlorophylle a ou c évaluée par rapport à une valeur 100 de l'ensemble, ce qui a donné pour la claire I, 100 % de chlorophylle a, pour la claire II 57 % de chlorophylle a et 43 % de chlorophylle c.

Précisons que les éléments phyto-benthiques de chaque claire ont été dénombrés simultanément, ce qui a fourni les résultats suivants :

pour la claire I, 70 % de *N. ostrearia* pigmentée, le reste étant constitué pour la majorité de *Pleurosigma* ;

pour la claire II, absence totale de *N. ostrearia*, la flore benthique rassemblant en grande quantité des diatomées des genres les plus communs : *Nitzschiella*, *Nitzschia*, *Bacillaria*, *Pleurosigma*, *Amphiprora* (formes solitaires ou coloniales).

Enfin l'indice D_{4300}/D_{630} a pu être évalué pour chaque claire, il est de 4,66 pour la première et de 3,03 pour la seconde. La claire II avait l'aspect de claire rebelle au verdissement et contenait une plus grande quantité de pigments chlorophylliens (45 µg/l).

2) L'interprétation des résultats. La claire I riche en *N. ostrearia* pigmentée accuse une baisse relative en chlorophylle *c* en même temps que le rapport D_{4300}/D_{630} atteint une valeur élevée (4,66). La claire II d'où la navicule est absente montre simultanément une teneur importante en chlorophylles *a* et *c* mais le rapport D_{4300}/D_{630} est beaucoup plus faible (3,03).

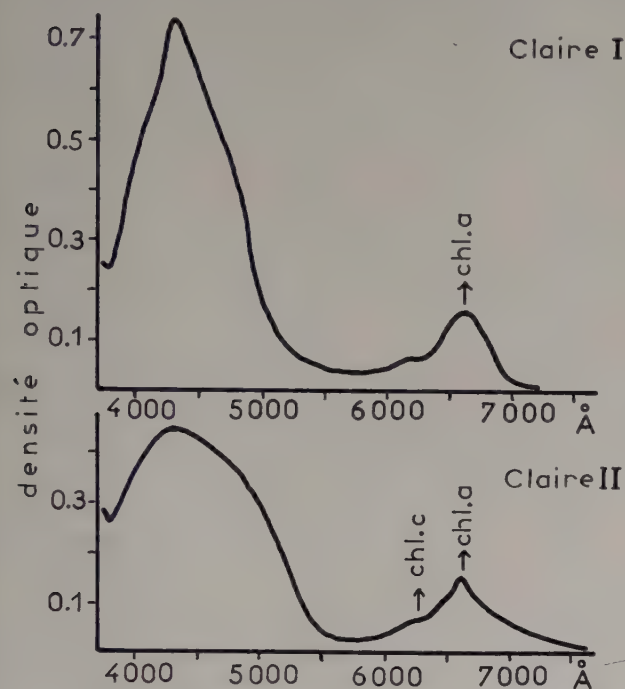


FIG. 18. — Courbes d'absorption des pigments de deux claires avec et sans *N. ostrearia* pigmentée.

des caroténoïdes, de leur rapport entre eux ? Autant de questions auxquelles l'étude des spectres d'absorption ne permet seule de répondre et qui justifient les recherches *in situ* plus poussées et que nous allons exposer ci-après.

II. - Evolution des pigments des claires en rapport avec la présence et la pigmentation de *Navicula ostrearia*.

Nos recherches axées sur les divers pigments constitutifs des organismes chlorophylliens ont porté d'abord sur des claires bio-géographiquement différentes, vallée de la Seudre et Bonne-Anse (MOREAU, 1967 a), puis nous avons recherché les rapports entre la quantité de *N. ostrearia* et la teneur en pigments, particulièrement les chlorophylles *a* et *c* qui caractérisent les diatomées (MOREAU, 1967 a, 1969 d). Nous allons expliciter ci-après les recherches effectuées dans ce sens dont les résultats importants seront résumés.

Recherches cinématiques comparatives de l'évolution des pigments dans les claires.

Les claires expérimentales utilisées ont été numérotées 1 à 5 sur la rive gauche de la Seudre, 6 et 7 dans la baie de Bonne-Anse qui reçoit plus directement les eaux océaniques mais aussi celles de Gironde (fig. 1).

Nous avons reporté sur la figure 19 les graphiques récapitulant l'ensemble des observations faites sur ces sept claires.

Ces graphiques ont été construits sur la base d'observations et d'analyses fréquentes (tous les deux ou trois jours au maximum). Une autre période que l'automne, bien moins favorable à la pigmentation de *N. ostrearia*, n'aurait pas permis des observations avec autant de précision que ce soit

Ces différences sont significatives et se reflètent dans l'allure des courbes d'absorption où la valeur des densités optiques est particulièrement différente au niveau de 4300 Å. En somme, l'augmentation de la quantité de *N. ostrearia* pigmentée est corrélative d'une perte en chlorophylle *c* et elle est en rapport avec l'élévation de l'indice D_{4300}/D_{630} . Puisque celle-ci traduit une augmentation de la teneur en pigments détritiques elle paraît se produire ici aux dépens de la chlorophylle *c*. Ces résultats sont particulièrement comparables à ceux que nous avons obtenus sur *N. ostrearia* isolée (chap. V). En effet, l'indice D_{4300}/D_{630} s'élève suivant la production de marennine elle-même en rapport avec une diminution des chloroplastes illustrée par la perte en chlorophylle *c*.

Ainsi, les mêmes phénomènes observés au sein de *N. ostrearia* se retrouvent *in situ* si l'on compare deux claires avec ou sans cette navicule. D'ores et déjà nous pouvons donc envisager la pigmentation de cette diatomée comme un phénomène chlorotique c'est-à-dire une véritable dégénérescence pigmentaire ou bio-dégradation chlorophyllienne. Ce processus est-il uniforme dans toutes les claires qui verdissent ? Quelle est l'évolution des pigments actifs ou dégradés,

sur la même claire ou sur un ensemble de ces bassins. Les claires expérimentales, en effet, n'ont pas été choisies au hasard. Échantillons représentatifs de leur secteur, alimentées de manière comparable, celles portant les numéros de 1 à 5 permettent de juger valablement des variations biogéographiques de l'amont à l'aval de la Seudre ainsi que nous l'avait suggéré les observations recueillies auprès des ostréiculteurs. Malgré le travail considérable que représentait l'étude simultanée de ces cinq claires nous avons, pendant deux mois, pu suivre également deux claires particulièrement choisies de la baie de Bonne-Anse où les conditions hydrologiques sont naturellement différentes.

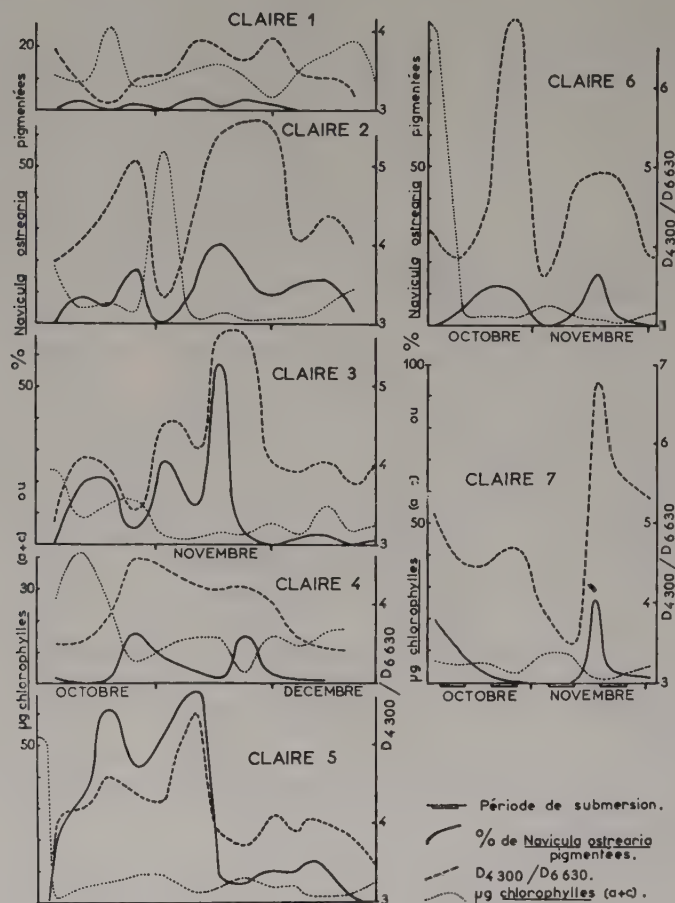


FIG. 19. — Le verdissement dans les claires de la Seudre (1 à 5) et de Bonne-Anse (6 et 7) et l'évolution des pigments en automne 1965.

L'ensemble des résultats forme un tout cohérent dont les variations peuvent être mises en rapport avec les périodes de submersion ou d'alimentation. La teneur globale en $\mu\text{g/l}$ des chlorophylles n'est précisée que pour a et c : la chlorophylle b dans les claires est en effet en proportion constante de 30 à 35 %, elle est surtout détritique et provient des algues multicellulaires ou bien elle peut être en rapport avec la prolifération accidentelle d'Eugléniens. L'indice D_{4300}/D_{6630} exprime la prépondérance des pigments dégradés ou au contraire le pouvoir accru de photosynthèse suivant que ce rapport augmente ou diminue.

Ces précisions étant données, quatre remarques importantes doivent être faites.

a) Le verdissement exprimé par le pourcentage de *N. ostrearia* varie toujours parallèlement à l'indice des densités optiques et il est donc concomittant d'une dégradation des chlorophylles.

b) La teneur en chlorophylles $a + c$ varie en sens inverse de ces deux derniers facteurs et confirme donc l'évolution simultanée de ceux-ci. En d'autres termes, à une teneur importante en *N. ostrearia* pigmentée correspond une valeur élevée de l'indice D_{4300}/D_{6630} et une quantité très faible de chlorophylles. Réciproquement, à une teneur faible ou nulle en *N. ostrearia* pigmentée correspond une valeur faible de l'indice D_{4300}/D_{6630} et une quantité plus élevée de chlorophylles.

Une chute rapide de la teneur en chlorophylles $a + c$ est corrélative de l'apparition ou d'un nouveau développement de *N. ostrearia* pigmentée mais nous devons signaler le fait déjà envisagé par BACHRACH (1935) selon lequel les chlorophylles ne disparaissent jamais complètement.

c) Le verdissement est beaucoup plus intense en aval (claire 5) qu'en amont (claire 1) dans les claires de la rive gauche de la Seudre, phénomène déjà constaté empiriquement par les ostréiculteurs.

d) A verdissement équivalent, les valeurs maximales de l'indice D_{4300}/D_{6630} sont beaucoup plus élevées dans les claires 6 et 7 de la baie de Bonne-Anse ; cette observation plus valable aux périodes de submersion ou d'alimentation s'explique naturellement par un apport important de phéopigments par les eaux de Gironde. Elle suffirait pour confirmer, si cela était nécessaire, la signification que nous accordons dans les claires à ce rapport de deux densités optiques.

La superficie des claires, leur position géographique par rapport au bassin, leurs caractères individuels propres tenant parfois à quelques détails hydrologique, bionomique ou même pédologique, peuvent naturellement justifier quelques évolutions aberrantes dont la rareté confirme en fait une loi biologique fondamentale dans l'explication *in situ* du phénomène de verdissement. Il y a dans les claires, en période automnale, une relation inverse et constante entre l'apparition et la multiplication de *N. ostrearia* pigmentée et la disparition des chlorophylles a et c qui caractérisent les diatomées. En outre, quel que soit le coefficient de marée ou la situation géographique des claires, l'augmentation générale de la teneur en pigments dégradés est fonction du verdissement dès que celui-ci apparaît. La photosynthèse dans les claires est dirigée par une alternance écologique : *N. ostrearia* pigmentée-organismes chlorophylliens actifs. Nous retrouvons là l'intermittence d'un flux d'énergie partie intégrante d'un écosystème *a priori* complexe mais qui ne pouvait être mieux schématisé que par des graphiques (fig. 19).

Nous ne saurions conclure ce paragraphe sans préciser qu'outre les recherches faites en automne et qui viennent d'être explicitées, des observations similaires ont été faites la même année, mais de juin à août sur les mêmes claires. De fortes teneurs en chlorophylles, de 23 à 64 $\mu\text{g/l}$ en amont de la Seudre et de 34 à 38 $\mu\text{g/l}$ en aval, ont été obtenues. Elles étaient donc en moyenne trois à quatre fois celles trouvées en automne. En cette période d'été les faibles valeurs étaient tout à fait exceptionnelles et ce n'est d'ailleurs que dans ces cas précis que la navicule, dont la fréquence était généralement de 1 à 2 % atteignait alors 10 % sans toutefois dépasser cette valeur.

Recherches sur les rapports entre le verdissement et les pigments des claires.

Les recherches qui font l'objet de la majeure partie de ce chapitre ont porté sur plus de 3 300 données diverses que nous avons rassemblées sur des graphiques à coordonnées semi-logarithmiques en raison de la multiplication théoriquement exponentielle des diatomées (STRICKLAND, 1960).

Nous exposerons donc à l'aide de données statistiques les divers rapports que nous avons étudiés et qui ont porté, au cours du verdissement, sur les points suivants :

- relation entre la teneur en phéopigments et en chlorophylles ($a + c$),
- relation avec la teneur en caroténoïdes non-astaciens,
- relation avec la teneur en chlorophylles a et c ,
- rapport entre les chlorophylles totales et les caroténoïdes non-astaciens.

Dans toutes ces recherches les chlorophylles sont dosées à l'aide de la technique trichromatique déjà exposée, quant aux phéopigments et aux caroténoïdes, ils le sont avec des techniques également précisées au chapitre III. Nous décrirons par la suite les observations faites plus récemment avec une technique améliorée, sur l'évolution des chlorophylles a et c en rapport avec la présence de *N. ostrearia* pigmentée.

1) Relation entre la teneur en phéo-pigments et en chlorophylles (a + c) au cours du verdissement.

Nous avons porté en coordonnées semi-logarithmiques sur la figure 20 les variations simultanées de la teneur en phéo-pigments et en chlorophylles (a + c) en fonction du verdissement exprimé par le pourcentage de *N. ostrearia* pigmentée. Phéo-pigment et chlorophylle n'ont d'intérêt ici que très relativement l'un par rapport à l'autre. En effet si la teneur en chlorophylle diminue celle en phéo-pigment fait de même : celui-ci provenant de celle-là, ce n'est que très normal. Il ne faut d'ailleurs pas oublier que si les chlorophylles se dégradent, les phéo-pigments eux-mêmes ne restent pas en cet état car, inclus dans la biomasse organique, ils subissent lentement la dégradation naturelle et classique qui les ramènera sous la forme d'éléments chimiques simples.

Ce qui importe est donc surtout l'indice phéo-pigments sur chlorophylles (a + c) et sa variation parallèlement au verdissement. Ainsi, cet indice est de 1,90 en l'absence totale de navicule, il passe à 2,48 quand celle-ci apparaît (1 % de *N. ostrearia* pigmentée). Cet indice augmente très vite avec le verdissement puisqu'il atteint progressivement 6,33 pour 70 % de *N. ostrearia* pigmentée. Cette évolution témoigne d'une dégradation chlorophyllienne dans les claires au cours du verdissement.

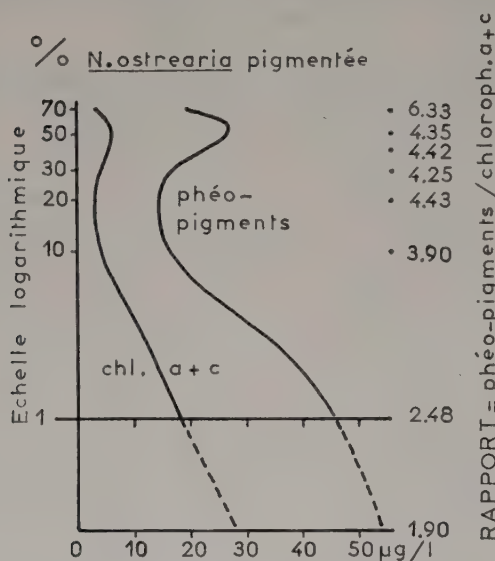


FIG. 20. — Variations simultanées des teneurs en phéo-pigments et en chlorophylles (a + c) en rapport avec le verdissement.

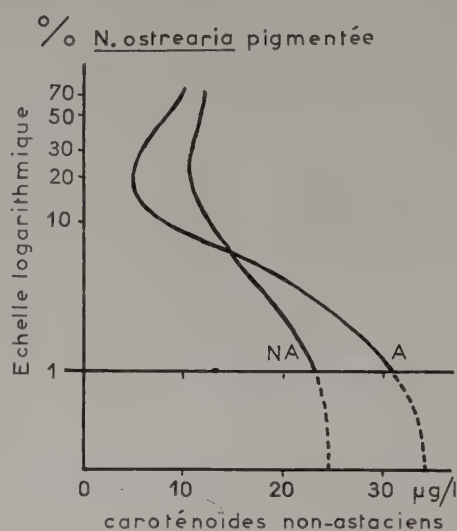


FIG. 21. — Variations de la teneur en caroténoïdes non-astaciens en fonction du verdissement et suivant l'alimentation (NA : claires non alimentées ou non submergées; A : claires alimentées ou submergées).

2) Relation entre le verdissement et la teneur en caroténoïdes non-astaciens.

Nous avons indiqué sur la figure 21, en rapport avec le verdissement dans les claires, la variation de la teneur en caroténoïdes non-astaciens dosés selon le protocole indiqué au chapitre III. Le graphique est là aussi exprimé en coordonnées semi-logarithmiques mais nous l'avons continué en coordonnées cartésiennes dans l'intervalle 0-1 % de *N. ostrearia* pigmentée. On remarque qu'une baisse quantitative importante en caroténoïdes non-astaciens affecte les claires dès le début de leur verdissement (1 %). Les valeurs minimales (5,0 et 10,5 µg/l) et les valeurs maximales (24,5 et 34,0 µg/l) sont différentes selon l'importance de l'alimentation en eau des claires suivant qu'elles sont alimentées (A) ou non-alimentées (NA) au moment du prélèvement.

Nous avons rappelé au chapitre II la conception de RANSON (1927 b) selon laquelle la marenine serait une substance pigmentée « ayant les caractéristiques des caroténoïdes ». Nous avons par ailleurs précisé au chapitre III la très faible part de caroténoïdes astaciens déterminables *in situ*.

Si l'hypothèse de RANSON s'avérait exacte les courbes d'absorption décrites par ailleurs auraient montré une absorption importante à 5 100 Å pour les caroténoïdes astaciens. Or, les caroténoïdes dits non-astaciens ont été dosés avec précision, leur teneur diminue avec le verdissement. Il ne paraît

donc pas, du moins dans l'état de nos recherches, qu'il y ait une relation quelconque entre la pigmentation de cette navicule et la teneur en caroténoïdes.

3) Relation entre le verdissement et la teneur en chlorophylles a et c.

Le graphique de la figure 22 a été établi en coordonnées semi-logarithmiques. Comme pour les deux figures précédentes nous avons prolongé arbitrairement en coordonnées cartésiennes dans l'intervalle 0-1 % de *N. ostrearia* pigmentée. Nous avons là aussi séparé les prélèvements effectués en période de non-alimentation (NA) de ceux faits pendant la submersion ou l'alimentation (A). En outre, nous avons figuré séparément sur le même graphique les chlorophylles c et a, chacune évoluant différemment.

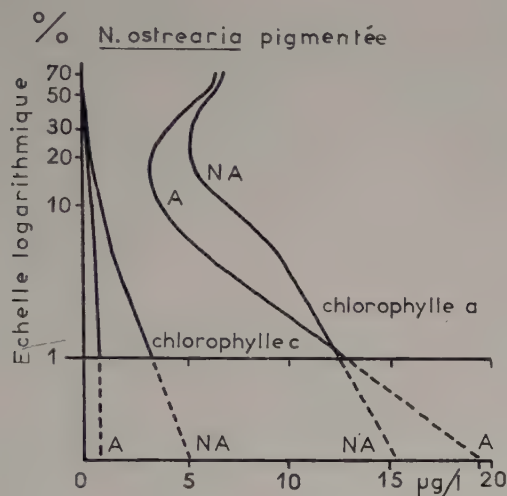


FIG. 22. — Evolution de la teneur en chlorophylles a et c au cours du verdissement (NA : claires non alimentées ou non submergées ; A : claires alimentées ou submergées).

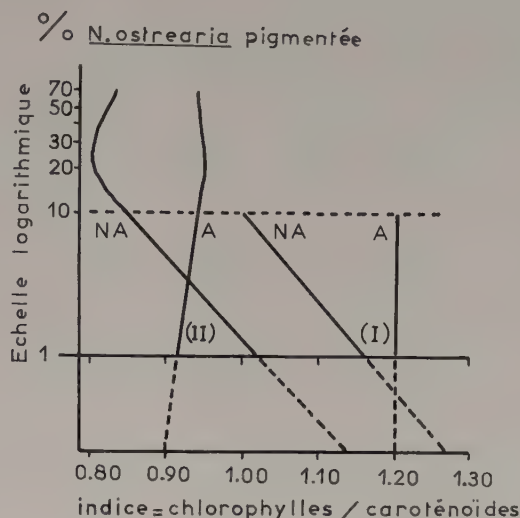


FIG. 23. — Evolution de l'indice chlorophylles totales/caroténoïdes non-astaciens suivant le verdissement en rapport avec la saison et l'alimentation (I : juin à août ; II : octobre à décembre).

a) La chlorophylle c disparaît progressivement mais complètement. Ce résultat est d'autant plus important qu'il est en accord avec les résultats obtenus précédemment. L'étude des courbes d'absorption de *N. ostrearia* isolée (chap. V) nous avait, en effet, permis de mettre en évidence « une réduction de la teneur en chlorophylle c » pendant la production de la marennine et celle des courbes d'absorption de claires avec ou sans *N. ostrearia* pigmentée (chap. VI) avait également établi une baisse relative en chlorophylle c dans le cas d'une claire riche en *N. ostrearia* pigmentée. De ce fait, la diminution et même la perte de chlorophylle c est parfaitement établie. Cette disparition s'effectue quand la claire est en état de verdissement, et dans l'état des connaissances exposées quelle que soit l'alimentation.

b) La chlorophylle a subit également une réduction considérable au cours du verdissement (fig. 22). Mais si la chlorophylle c est plus abondante dans une claire non alimentée où se développent largement les diatomées diverses, une proportionnalité inverse tend à s'établir pour la chlorophylle a lorsque la population de navicules est faible. Ce pigment a un comportement différent ; la chlorophylle a ne disparaît en effet jamais complètement, le minimum moyen étant de l'ordre de 3 µg/l dans le cas des claires alimentées ou de 6 µg/l dans les claires en cours d'alimentation.

4) Evolution de l'indice : chlorophylles totales/caroténoïdes suivant la saison et l'alimentation de la claire.

La figure 23 montre les variations de cet indice (I) au cours de l'été (juin à août) pour un verdissement très faible ; (II) au cours de l'automne lorsque les navicules pigmentées se multiplient activement (octobre à décembre).

Pour un verdissement égal (par ex. 10 % de *N. ostrearia* pigmentée) les valeurs moyennes de l'indice sont de 1,00 en été et de 0,85 en automne pour les claires non alimentées. Elles passent à 1,21 en été et à 0,94 en automne pour les claires alimentées. Mais cet indice relativement stable pour ces dernières tend à diminuer à mesure du verdissement dans les claires non alimentées et peut atteindre en automne une valeur minimale moyenne de 0,80. Le graphique met bien en évidence une variation saisonnière pour un verdissement égal ou nul ainsi que l'importance du renouvellement des eaux.

Nous avons établi (chap. IV, fig. 13) les variations simultanées de la chlorophylle *a* et des caroténoïdes non-astaciens en période d'été et d'automne. Il paraît opportun, ici, de rapprocher ces deux séries d'observations qui confirment cette variation saisonnière dont nous venons de parler. D'autre part, YENTSCH et coll. in STRICKLAND (1960) voient dans la modification du rapport chlorophylles totales/caroténoïdes non-astaciens un changement de métabolisme. L'étude ultérieure de certains facteurs de verdissement nous permettra de relier cette conception à des données précises concernant par exemple la productivité primaire. Néanmoins il est intéressant de rapprocher les résultats établis par le graphique de la figure 23 de certaines données déjà précisées.

Le rapport chlorophylles/caroténoïdes pour deux séries de courbes d'absorption se rapportent à *Navicula ostrearia* isolée dont le pourcentage des individus pigmentés est de 100 et 35 % (chap. V, fig. 17),

aux deux claires I et II de Daire (chap. VI, fig. 18) :

I : 70 % de *N. ostrearia* pigmentée,

II : absence de *N. ostrearia* pigmentée.

Le rapport chlorophylles/caroténoïdes est toujours plus élevé lorsque la production de marenine baisse ou lorsque le pourcentage d'individus pigmentés est moindre :

0,79 - 0,97 dans le premier cas (fig. 17) ; 0,75 - 1,15 dans le second (fig. 18).

Ces résultats concordants sont remarquables dans le cadre d'une étude de l'évolution de l'indice chlorophylles/caroténoïdes. Nous verrons ultérieurement la signification qu'il convient d'accorder à celui-ci en rapport avec les facteurs déterminants du verdissement.

L'ensemble de nos recherches sur l'évolution des pigments des claires en rapport avec la présence et la pigmentation de *N. ostrearia* trouve son illustration dans la récapitulation des résultats obtenus. Nous avons porté sur le tableau 5 les moyennes de la plupart des mesures effectuées au cours de l'année 1965, c'est-à-dire les chlorophylles *a*, *b* et *c*, les caroténoïdes non-astaciens, le rapport de ces pigments, l'indice D_{4300}/D_{630} . Chacune de ces valeurs moyennes a été calculée pour deux catégories de claires, celles dites « blanches » où *N. ostrearia* est absente ; celles dites « pigmentées » où *N. ostrearia* contenant de la marenine est présente en proportions diverses : claires faiblement pigmentées avec 1 à 10 %, moyennement pigmentées avec 1 à 30 %, très pigmentées avec 31 à 70 %.

En été, le verdissement est sporadique et très faible et la teneur en chlorophylles est élevée. En revanche, à l'automne, il est beaucoup plus répandu et le pourcentage de *N. ostrearia* devient élevé, pouvant atteindre jusqu'à 70 % des éléments benthiques. A cette prolifération correspond la dégradation automnale des organismes végétaux puisque la teneur en chlorophylles est inversement proportionnelle à la quantité relative de la navicule.

Dans ce tableau apparaissent en rapport avec le verdissement, si faible soit-il, une réduction importante de la teneur en chlorophylles diverses et en caroténoïdes non-astaciens en même temps qu'une augmentation de l'indice moyen : D_{4300}/D_{630} . Ces résultats généraux sont très significatifs mais n'excluent pas des recherches plus précises que nous allons exposer avant de conclure.

Recherches complémentaires sur le verdissement et l'évolution corrélative des chlorophylles *a* et *c*.

Une méthode plus précise que la technique trichromatique, celle de PARSONS nous a permis en 1968 et en 1969 d'apporter des précisions intéressantes sur l'évolution et le comportement simultanés des chlorophylles *a* et *c* mais dans le cadre restreint de deux claires seulement. Précisons que les deux claires expérimentales utilisées sont numérotées A et B sur la figure 1. Elles sont voisines

l'une de l'autre et situées en bordure de la Seudre près de La Tremblade. La claire B, plus basse, est donc alimentée plus largement que la claire A.

<i>Navicula ostrearia</i> pigmentée (en %)	Chlorophylles en µg/l				Caroténoïdes en µg/l	Chlorophylles totales/ caroténoïdes	D ₄₃₀₀ /D ₆₃₀
	a	b	c	total			
Juin à août 1965							
0 % claires « blanches » N = 36	28,80	23,56	5,07	57,43	46,94	1,22	3,66
1 à 10 % claires faiblement pigmentées N = 24	17,22	11,37	1,50	30,09	32,08	0,95	3,90
octobre à décembre 1965							
0 % claires « blanches » N = 15	17,09	9,03	4,29	30,41	26,96	1,12	3,45
1 à 30 % claires moyennement pigmentées N = 46	6,22	2,88	0,50	9,60	10,65	0,90	4,21
31 à 70 % claires très pigmentées N = 19	5,48	2,47	0,14	8,09	10,17	0,79	4,77

TABL. 5. — Le verdissement des claires de la rive gauche de la Seudre (claires 1 à 5 fig. 1). Valeurs moyennes obtenues sur 60 prélèvements de juin à août 1965 et 80 prélèvements de octobre à décembre 1965.

1) Les pigments chlorophylliens des diatomées des claires et leur comportement au cours de la pigmentation et de la multiplication de *N. ostrearia*.

Les claires A et B ont pu être étudiées exceptionnellement au printemps 1968, période où ces

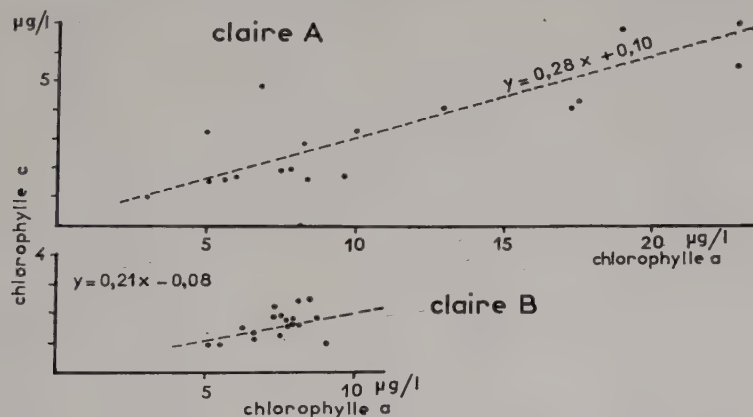


FIG. 24. — Diagrammes de dispersion montrant la corrélation entre les teneurs en chlorophylles a et c au printemps 1968 dans deux claires : A sans *N. ostrearia*, B avec *N. ostrearia* pigmentée.

bassins sont généralement vidés en vue de l'opération du parage. Le dosage simultané des chlorophylles a et c a été effectué selon la technique précise déjà indiquée et les résultats ont été portés

sur les deux graphiques de la figure 24 où la chlorophylle *a* est portée en abscisse et la chlorophylle *c* en ordonnée (en $\mu\text{g/l}$). Les données obtenues portent sur trois mois d'expérimentation.

Dans la claire A nous n'avons décelé aucune navicule. La corrélation entre les chlorophylles *a* et *c* obéit à une droite de régression définie et les teneurs en chlorophylles peuvent être très élevées allant jusqu'à 23 $\mu\text{g/l}$ pour la chlorophylle *a* et 7 $\mu\text{g/l}$ pour la chlorophylle *c*. Le rapport de ces pigments est $0,19 \leq c/a \leq 0,70$ avec une droite $Y = 0,28 X + 0,10$ et un coefficient de régression $r = + 0,994$.

Dans la claire B l'apparition constante de *N. ostrearia* pigmentée amène à des valeurs de chlorophylles beaucoup plus faibles puisqu'elles ne dépassent pas 9 $\mu\text{g/l}$ pour *a* et 2,4 $\mu\text{g/l}$ pour *c*. Le rapport *c/a* est différent puisque $0,10 \leq c/a \leq 0,32$ avec une droite $Y = 0,21 X - 0,08$ et un coefficient de régression $r = + 0,429$.

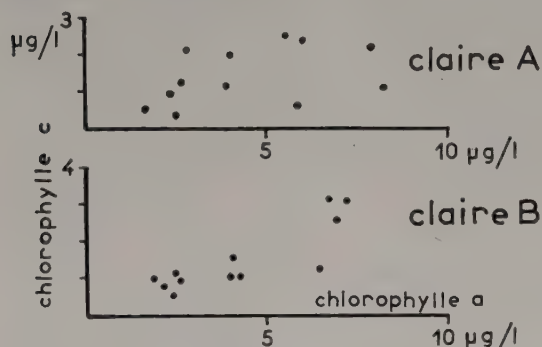


FIG. 25. — Corrélation entre les teneurs en chlorophylles *a* et *c* au cours de l'hiver 1968-1969 dans les claires A et B au moment de la plus forte régression végétale.

c/a des chlorophylles qui est $0,13 \leq c/a \leq 0,75$ dans la claire A, $0,20 \leq c/a \leq 0,62$ dans la claire B, est comparable dans ses limites à ce qui a été trouvé dans la claire B au printemps lorsque *N. ostrearia* se développait abondamment.

2) L'évolution cinématique simultanée du rapport des chlorophylles *c/a* dans deux claires différentes par leur verdissement.

Nous avons indiqué (fig. 26) pour avril et mai 1968 la variation de ce rapport *c/a* pour deux claires expérimentées ; dans la claire A il n'a été décelé aucune *N. ostrearia*, dans la claire B l'abondance de *N. ostrearia* pigmentée est figurée en pourcentage de l'ensemble des diatomées benthiques. Le nombre de *N. ostrearia* pigmentée subit des fluctuations et peut dépasser 25 %. Mais l'évolution du rapport *c/a* est significatif car il nous permet les observations suivantes.

En valeur absolue il est toujours plus élevé dans la claire A dépourvue de *N. ostrearia*. La chlorophylle *a* est relativement plus importante que la chlorophylle *c* et leur rapport est parfois élevé ne s'approchant toutefois que rarement de la valeur 0,60-0,70, moyenne relevée dans la zone photique des eaux méditerranéennes et océaniques (JACQUES, 1968 ; RICHARDS-THOMPSON, 1952, p. 168, fig. 3). Dans la claire B le rapport *c/a* est moindre mais varie dans le même sens que dans l'autre claire (un léger décalage peut être dû à la différence du niveau d'alimentation des deux claires).

En valeur relative, dans la claire B le rapport *c/a* varie en raison inverse du pourcentage de *N. ostrearia* pigmentée et d'une manière régulière.

En conclusion, dans la claire A dépourvue de *N. ostrearia* le rapport *c/a* varie le plus souvent entre 0,30 et 0,50. Dans la claire B pigmentée par la navicule la teneur en chlorophylle *c* diminue plus vite que celle en chlorophylle *a*. Ces résultats sont parfaitement en accord avec ceux mis en évidence précédemment.

En résumé, nos recherches effectuées ont permis d'observer que le verdissement de la claire exprimé par le pourcentage de *Navicula ostrearia* est en rapport avec une dégradation des chlorophylles *a* et *c*. Celles-ci se développent en l'absence de *Navicula* mais il est plus remarquable encore que cette navicule se pigmente et se multiplie alors que disparaissent ces chlorophylles. Les variations du rapport des densités optiques D_{4300}/D_{630} sont liées à ces développements pigmentaires successifs.

La comparaison des deux diagrammes confirme donc l'aspect chlorotique du phénomène du verdissement déjà défini et elle établit les limites de variations du rapport des chlorophylles *a* et *c*.

Dans ce milieu particulier que sont les claires la disparition progressive des chlorophylles (*c* surtout) au cours du développement de *N. ostrearia* même en période printanière peut être comparée à la chlorose naturelle saisonnière qui affecte ce biotope au milieu de l'hiver. En effet pendant l'hiver 1968-1969, pris pour référence (fig. 25), les mêmes claires A et B expérimentées montrent une corrélation de la teneur en chlorophylles *a* et *c* comparable à ce que nous avons observé dans la claire B au printemps (fig. 24) ; le nuage de dispersion est concentré et les teneurs en chlorophylles sont peu élevées. De même le rapport

Les observations faites en des claires différentes et en des secteurs géographiquement et hydrologiquement dissemblables amènent à interpréter le phénomène du verdissement comme un processus de dégradation dans un milieu où il y a alternance écologique, d'une part de *N. ostrearia* avec l'état chlorotique qui l'accompagne, et d'autre part des diatomées benthiques et plus généralement de la flore à développement chlorophyllien intense.

Par ailleurs, des données statistiques groupant un grand nombre d'éléments et de claires mettent en évidence au cours du verdissement les phénomènes suivants :

augmentation du rapport phéo-pigments/chlorophylles ($a + c$) qui montre une dégradation chlorophyllienne corrélative ;

diminution de la teneur en caroténoïdes non-astaciens ; les observations faites n'indiquent d'ailleurs aucune relation entre la pigmentation de *N. ostrearia* et la teneur en caroténoïdes ;

disparition progressive de la chlorophylle c et une diminution importante de la chlorophylle a jusqu'à une teneur minimale ;

variation saisonnière importante du rapport chlorophylles/caroténoïdes, celui-ci décroît au cours du verdissement surtout dans les claires en période de non-alimentation, mais il s'accroît lorsque la production de marennine diminue ou lorsque le nombre de *N. ostrearia* s'abaisse.

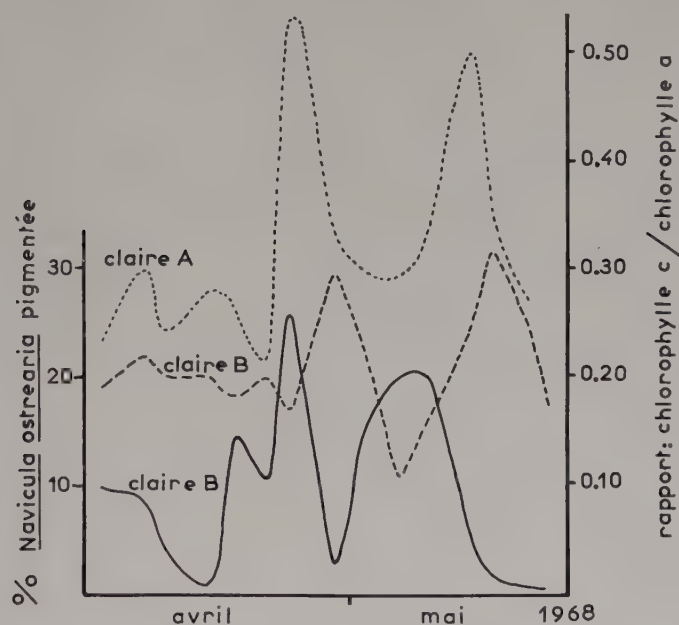


FIG. 26. — Evolution du rapport des chlorophylles c/a (pointillé) pour deux claires au printemps 1968 : A dépourvue de *N. ostrearia*, B possédant constamment *N. ostrearia* pigmentée (trait plein).

L'importance des chlorophylles a et c , leur rôle dans le phénomène du verdissement, nous ont amené à mesurer ces pigments et à suivre leurs variations avec une technique différente et d'une précision supérieure.

Portée sur graphiques, la dispersion mathématique des teneurs obtenues montre, comme en témoignent les coefficients de corrélation, une régression caractéristique des pigments chlorophylliens en rapport avec la pigmentation de *N. ostrearia*.

La recherche des variations du rapport des chlorophylles a et c a confirmé une perte plus rapide en chlorophylle c comme nous l'avons établi plus haut. L'indice c/a obtenu caractérise des eaux sub-littorales relativement plus riches en chlorophylles c que les eaux du large par le fait que celles des claires sont, comme nous l'avons montré, en contact avec une flore importante de diatomées.

La seconde partie de ce chapitre a montré l'uniformité de la variation des pigments dans les claires en fonction du verdissement. Les résultats nouveaux obtenus avec des techniques différentes sur des claires diverses sont en accord avec quelques observations faites *in vitro* et concernant *N. ostrearia* (chap. V). Nous savons par ailleurs l'importance causale qui fut accordée à certaines substances telles que les hydrates de carbone. L'étude des claires devait donc être complétée ; le paragraphe suivant donne les résultats obtenus sur ce sujet qui n'est pas sans relation avec le phénomène du verdissement tel qu'il est défini jusqu'ici.

III. - Relation entre le verdissement et les substances hydro-carbonées.

RANSON (1927) a affirmé que la pigmentation de *Navicula ostrearia* est intimement liée à la présence des huîtres. Pour lui, le mucus des huîtres est formé de mucines vraies dont l'hydrolyse acide par un phénomène bactérien aboutit à des sucres réducteurs ; ceux-ci constitueraient selon le même auteur l'agent causal de la pigmentation de *N. ostrearia*. Cette conception a été fort discutée, notamment par BACHRACH (1935) et RANSON lui-même avait cité certains auteurs (MIQUEL, 1892 ; CHODAT, 1913) selon lesquels, en présence d'hydrates de carbone, les diatomées deviennent sans couleur.

Ce rappel de considérations anciennes pose le problème des hydrates de carbone et montre l'importance de travaux *in situ* sur ce sujet. Nous exposerons donc des recherches effectuées sur la présence, la nature de ces substances et leur relation sous leur forme dissoute ou particulière, avec le phénomène du verdissement et avec la pigmentation de *N. ostrearia*. Mais, auparavant, résumons les données déjà acquises.

PÉRÈS (1963) signale « des éliminations d'hydrates de carbone par des flagellés marins en culture abactérienne » chez *Isochrysis galbana* et *Monochrysis lutheri* par exemple et des faits identiques pour des dinoflagellés et des diatomées. Ces productions d'hydrates de carbone se manifestent surtout « vers la fin des périodes de multiplication lorsque les cellules sont très nombreuses et que la culture peut être considérée comme stationnaire ou même déjà déclinante ». La production d'hydrates de carbone par de tels végétaux inférieurs n'est donc plus à démontrer. D'ailleurs STRICKLAND (1960) précise que la formation de ces métabolites paraît être plus grande chez les diatomées s'accroissant sous des conditions de nutrition légèrement défavorables et à une intensité de lumière très modérée. Or ces facteurs paraissent précisément se trouver, comme nous le verrons au chapitre suivant, parmi ceux qui favorisent une pigmentation optimale de *N. ostrearia*. En outre, pour ce dernier auteur, les cellules âgées -et c'est le cas de cette navicule après plusieurs jours de pigmentation- produisent davantage d'oligosaccharides et de polysaccharides la principale réserve en hydrates de carbone de l'ensemble des chlorophycées étant constituée de polymères du glucose. Enfin, signalons que la présence de certains dérivés (hexuronides) ⁽¹⁾ n'est pas détectée selon PARSONS et coll. (1961) dans toutes les espèces de protophytes.

Ces précisions données, nous devons rappeler que nos travaux dans ce domaine furent menés à l'aide des techniques déjà exposées (chap. III) ; ce sont notamment celles de DUBOIS et coll. (1956) pour les hydrates de carbone dissous et celles de HEWITT in STRICKLAND et PARSONS (1958) avec adaptations personnelles pour les hydrates de carbone particuliers, c'est-à-dire inclus dans une biomasse organo-végétale en suspension ou en dépôt. En outre, les chlorophylles furent filtrées et déterminées selon les méthodes classiques indiquées mais sous les réserves suivantes : la chlorophylle *a* a été calculée d'après les indications portées p. 68 in SCOR-UNESCO (1966) ; la chlorophylle *c* a été dosée à l'aide de la technique d'absorption de PARSONS (1963). Toutes les autres mesures n'ont donné lieu à aucune modification particulière et elles ont été largement explicitées au chapitre III.

1° Recherches préliminaires.

Hydrates de carbone dissous.

Les résultats généraux obtenus avec la technique de DUBOIS et coll. sont les suivants.

(1) Les acides uroniques sont des produits d'oxydation des oses : aldéhydes ou cétones à plusieurs hydroxyles alcooliques (JAVILLIER et coll., 1959). Plusieurs désignations donnent lieu à des synonymies dans la littérature étrangère. C'est le cas de l'acide hexuronique et des hexuronides (DUBOIS et coll., 1956) dérivés des sucres en hexose. Leur formation peut augmenter sous l'influence de substances toxiques et elle apparaît généralement « comme un processus de défense de l'organisme ».

Dans l'eau des claires les teneurs varient suivant l'alimentation et les coefficients de marée, et suivant l'agitation faible de l'eau par les vents qui peut mettre en suspension des quantités diverses d'éléments végétaux benthiques. Les valeurs obtenues sont comprises entre 40 et 400 γ /l. Dans les eaux de la Seudre, de 4 m à la surface, les teneurs, d'ailleurs faibles, varient entre 75 γ et des traces difficilement décelables. L'eau intervalvaire de douze huîtres *Crassostrea gigas* TH. a donné des résultats comparables à ceux obtenus avec l'eau des claires : les valeurs étaient comprises entre 280 et 340 γ /l.

Ces premières approximations obtenues nous n'avons pas poursuivi cette technique. En effet, pour donner des résultats d'une précision rigoureuse ces dosages nécessitent un étalement suffisant de la zone du spectre proche de l'ultra-violet. Il est apparu préférable de doser les hydrates de carbone particuliers soit pour établir la relation éventuelle avec les organismes chlorophylliens planctoniques, soit pour obtenir la teneur en hydrates de carbone particuliers du tapis végétal benthique où vit précisément *N. ostrearia*.

Hydrates de carbone particuliers contenus dans la biomasse planctonique.

Nous avons employé la méthode de HEWITT in STRICKLAND et PARSONS (1958) pour 23 prélèvements effectués en été et en hiver, c'est-à-dire à des périodes de développement végétal intense ou nul, dans des claires pigmentées ou non par *N. ostrearia*.

Le rapport moyen des hydrates de carbone particuliers et des pigments, chlorophylles $a + b + c$ et caroténoïdes non-astaciens, se trouve compris dans des limites étroites quand on compare les résultats obtenus dans les mêmes conditions d'alimentation ; le rapport global est de 5,37 dans les claires pigmentées et de 6,89 dans les claires non pigmentées ou blanches. Ce résultat n'est pas particulièrement significatif bien qu'il indique une tendance à une plus grande production d'hydrates de carbone dans les claires dépourvues de *N. ostrearia*, donc possédant une teneur en pigments plus grande. Mais il est à remarquer que les données obtenues sont comparables à celles fournies par PARSONS, STEPHENS et STRICKLAND (1961) qui ont déterminé la composition chimique de plusieurs espèces de bacillariophycées planctoniques. Le rapport calculé des hydrates de carbone et des mêmes pigments totaux obtenus par ces auteurs s'établit en effet entre 4,40 et 8,27.

Ces procédés ne mettent pas en évidence de particularité remarquable pouvant expliquer la présence des hydrates de carbone dans les claires. L'explication de ce problème a donc été recherchée dans l'analyse de la couche benthique des vases et dans l'examen comparatif des courbes d'absorption des organismes qui y sont contenus, après le traitement bio-chimique approprié.

2° Recherches sur les hydrates de carbone particuliers de la couche superficielle des vases et sur leur relation avec la teneur en chlorophylles.

Les claires expérimentales utilisées pour ces recherches sont toutes situées au SE du bassin de Marennes-Oléron, sur la rive gauche de la Seudre. Les claires C et D en sont éloignées d'environ 1,700 km ; elles sont très voisines l'une de l'autre et elles sont alimentées par le même chenal à un niveau identique compris entre 80 et 85. Les claires A et B situées au contraire en bordure de la Seudre sont à un niveau différent, elles sont alimentées à partir d'un coefficient de 80 pour la claire A et de seulement 65-70 pour la claire B. L'eau de cette dernière est donc plus souvent renouvelée comme nous l'avons expliqué (chap. IV) à propos de la teneur en Ca et Mg. La figure 27 indique pour chaque claire les périodes respectives de submersion ou d'alimentation.

La claire C contenait des huîtres à raison de 20 à 30 au m^2 , les autres étaient continuellement dépourvues de ces mollusques pendant toute la durée des observations.

1) L'évolution simultanée de la teneur en chlorophylles et de celle en hydrates de carbone particuliers contenus dans la vase superficielle.

A la fin de l'hiver, les claires C et D ont fait l'objet d'examens suivis dont les résultats sont portés sur la figure 27. Ceux-ci comportent la teneur en hydrates de carbone particuliers des vases superficielles et celle en chlorophylle $a + c$. La chlorophylle c plus caractéristique des diatomées a été précisée à part. Les claires A et B dont les résultats sont portés de la même manière sur la figure ont fait l'objet de recherches semblables en avril et en mai. Le printemps qui coïncide avec une multiplication intense des organismes végétaux ne constitue pas généralement la période la plus favorable au développement et à la pigmentation de *N. ostrearia*. Cependant celle-ci s'est exceptionnellement développée dans les claires B et C ce qui les distingue des autres. En effet la teneur

en hydrates de carbone particuliers contenus dans la vase superficielle est nettement moins importante dans ces claires pigmentées. En outre l'observation à la même période d'expérimentation est plus significative encore ; tandis que la teneur en hydrates de carbone ne dépasse pas 40,4 μg de glucose /ml de vase dans la claire C, elle atteint jusqu'à 70,3 μg /ml de vase dans la claire D. La teneur en hydrates de carbone est de même généralement moins élevée dans la claire B pigmentée que dans la claire A qui reste blanche.

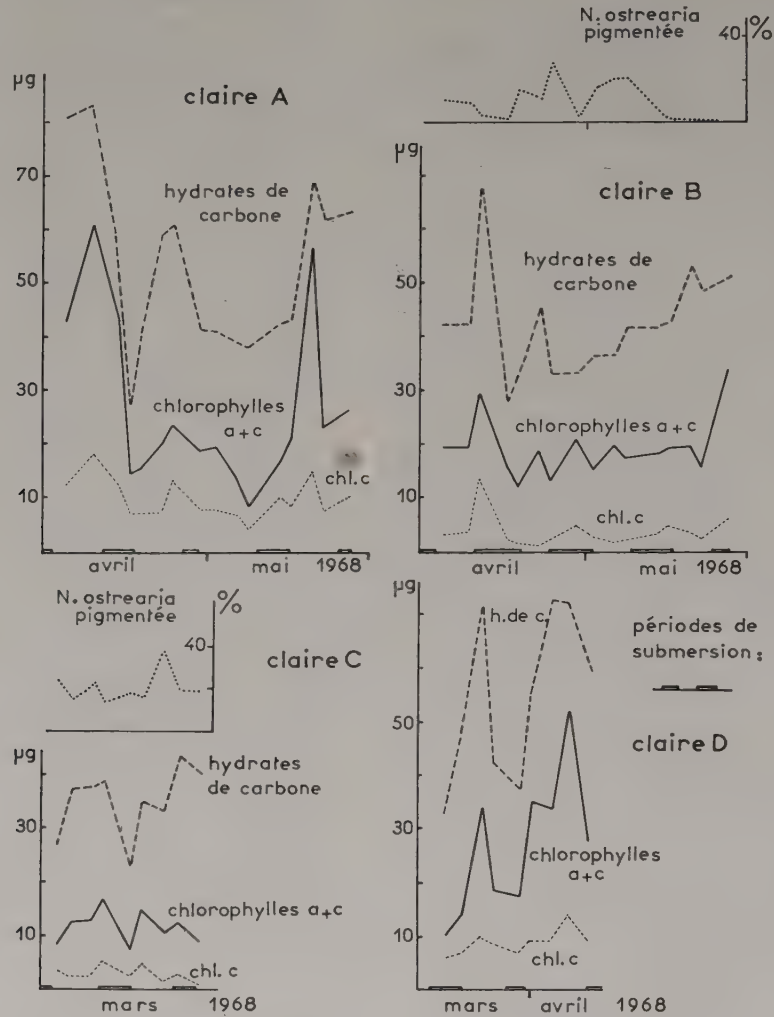


FIG. 27. — Variations simultanées de la teneur en chlorophylles a+c et en hydrates de carbone particuliers de la vase superficielle dans les claires A, B, C et D au printemps 1968.

Fait remarquable, l'ensemble de ces graphiques indique une corrélation constante entre la teneur en hydrates de carbone et celle en chlorophylles a + c ou en chlorophylles c seulement. En effet la figure 27 montre les variations de la teneur en sucres et en pigments chlorophylliens en rapport avec les périodes de submersion propres à chaque claire suivant le coefficient de marée. Il est intéressant de constater qu'à chaque alimentation une chute corrélatrice de la quantité de pigments et de sucres intervient en rapport avec les périodes de submersion de chaque claire ; à chaque renouvellement de l'eau une diminution de ces substances apparaît, en rapport avec une teneur généralement moindre des eaux de la Seudre moins riches en hydrates de carbone dissous comme il a été dit plus haut. En outre, un lavage des fonds intervient à chaque alimentation ce qui confirme la relation entre la teneur en

hydrates de carbone particuliers et celle en pigments chlorophylliens ; celle-ci est d'ailleurs en rapport avec le pourcentage de *N. ostrearia* pigmentée et ne fera donc pas l'objet d'autre explication puisque nous avons démontré plus haut le processus de ce phénomène de verdissement.

Enfin, la claire C, seule pourvue en huîtres, a montré une teneur régulièrement moindre en pigments chlorophylliens et ce fait paraît imputable à la nourriture absorbée. Mais la teneur en hydrates de carbone particuliers des vases est toujours inférieure à celle observée à la même période dans la claire D plus riche en pigments et qui ne possède pas d'huîtres.

En résumé, l'observation cinématique de variations bio-chimiques dans ces quatre claires souvent très différentes, de mars à mai, a permis de dégager les conclusions principales suivantes :

les claires blanches (A et D) dépourvues de *N. ostrearia* qui ont une teneur élevée en chlorophylles ont une forte teneur en hydrates de carbone particuliers ;

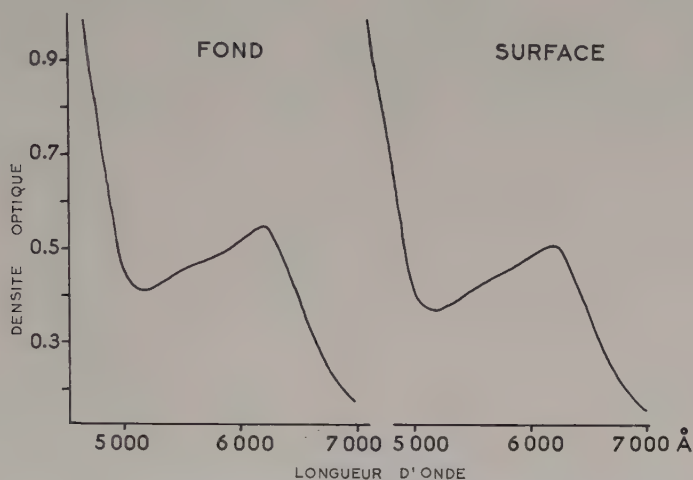


FIG. 28. — Courbes d'absorption pour des échantillons de fond et de surface traités au réactif à l'antrone.

les claires pigmentées (B et C) en rapport avec une quantité naturellement moindre de leurs chlorophylles montrent une régression simultanée des hydrates de carbone particuliers.

Ces variations sont concomitantes suivant les périodes d'alimentation et de submersion. Elles suggèrent la production par les diatomées dont la quantité est en rapport avec la teneur en chlorophylles d'hydrates de carbone du moins de ceux dosés sous la forme hexose ⁽¹⁾. En outre la présence de ces sucres est sans rapport avec celle des huîtres dans les conditions de l'expérimentation.

2) La teneur en hydrates de carbone particuliers de l'eau d'une claire interprétée avec les courbes d'absorption.

Après filtration et traitement du filtrat selon la technique décrite (chap. III) les hydrates de carbone particuliers sont mis en évidence à l'aide des courbes d'absorption. Ces expériences furent réalisées pour effectuer des comparaisons d'une part entre la surface et le fond, d'autre part entre les claires pigmentées ou non.

Comparaison surface-fond.

Les prélèvements furent faits par un ensoleillement total vers 13 h 30 G.M.T. au maximum de la photo-synthèse sur une claire possédant *N. ostrearia* pigmentée dans une proportion de 20 à 30 %.

(1) La technique spectrophotométrique de HEWITT in STRICKLAND et PARSONS (1965) permet une détection qualitative des sucres en pentose si : $D_{6500} > 80 \% \times D_{6200} \text{ Å}$ (D = densité optique). Aucune des analyses effectuées n'a permis de mettre en évidence la présence de ces sucres en quantité appréciable ou significative.

L'analyse moyenne des sucres en hexoses a donné 223 $\mu\text{g/l}$ en fond et 200 $\mu\text{g/l}$ en surface. La teneur en chlorophylles a et c était respectivement de 5,10 et de 1,12 $\mu\text{g/l}$ en fond, de 4,90 et de 1,03 $\mu\text{g/l}$ en surface.

Les courbes d'absorption établies (fig. 28) résultent de deux expériences faites à deux jours d'intervalle dans des conditions comparables. L'observation de ces deux courbes montre bien une densité optique légèrement plus grande en fond dans la bande des 6 200 Å indiquant une teneur plus élevée en hexoses. Mais l'allure des deux courbes est sensiblement la même et ne traduit pas de différence fondamentale à ces deux niveaux bathymétriques.

Comparaison d'une claire pigmentée et d'une claire blanche.

Des expériences semblables furent réalisées avec la solution de dosage utilisant l'anthrone comme réactif. Les courbes obtenues, toutes semblables suivant que les claires possédaient ou non *N. ostrearia* pigmentée, ont permis la construction de deux courbes résultantes portées sur la figure 29. Elles résument chacune les observations correspondant à douze analyses faites sur deux claires contiguës expérimentées. Des résultats différents et constants ont été obtenus ; en effet la courbe 1 où se trouve *N. ostrearia* pigmentée et la courbe 2 qui ne contient que *Nitzschiella* et *Pleurosigma* présentent une densité optique différente suivant la longueur d'onde pour un même volume filtré et des conditions expérimentales identiques.

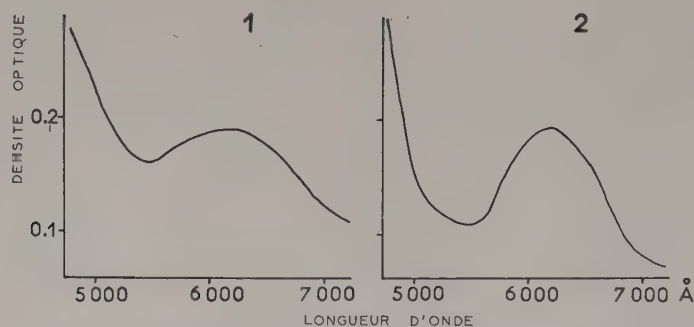


FIG. 29. — Courbes d'absorption pour des échantillons de claires pigmentée et blanche traités au réactif à l'anthrone ; présence de *N. ostrearia* pigmentée (courbe 1), absence de cette navicule (courbe 2).

La teneur des sucres en hexoses exprimée par la densité optique à 6 200 Å est de même valeur (0,190) sur la courbe 2 et sur la courbe 1 où prédomine *N. ostrearia* pigmentée. Mais à la longueur d'onde de 5 500 Å caractéristique des hexuronides (STRICKLAND et PARSONS, 1968), la quantité de ceux-ci paraît nettement plus importante sur la courbe 1 (0,160) que sur la courbe 2 (0,105) et le rapport de 1 à 2 passe de 1,18 à 1,80.

Ainsi, si la teneur des sucres en hexose reste inchangée dans les claires pigmentées où la flore de diatomées est toujours plus faible, la teneur en hexuronides paraît être beaucoup plus importante. Ce résultat a amené à envisager une étude plus poussée de ces courbes d'absorption en utilisant des espèces isolées des diatomées des claires.

3) L'analyse qualitative des matières hydro-carbonées contenues dans les diatomées des claires.

Les organismes utilisés sont séparés en utilisant leur photo-tropisme positif particulier et les prélèvements sont faits dans diverses claires où la population des diatomées benthiques est différente. Nous avons pu isoler ainsi *N. ostrearia* ainsi que *Pleurosigma* et *Nitzschiella*.

a) La courbe d'absorption obtenue avec *N. ostrearia* pigmentée à 100 % est portée sur la figure 30 (a). Ces navicules, après isolement, sont filtrées et ne subissent aucun lavage avec l'eau de la claire dont elles provenaient, on utilise seulement les quelques millilitres indispensables pour les recueillir. Le rapport des densités optiques à 6 200 Å et 5 500 Å qui sont les maxima d'absorption respectifs des hexoses et hexuronides est de 1,05 et témoigne d'une importante proportion de ceux-ci.

Il est apparu utile de connaître le comportement de ces substances particulières après un lavage des navicules en solutions diversement hypotoniques. En modifiant ainsi la faculté de diffusion vers l'extérieur à travers la membrane cellulaire au niveau du raphé nous avons pu apprécier le rapport éventuel avec la pigmentation. Dans ce but des *N. ostrearia* 100 % pigmentées sont immergées avant filtration dans une eau de mer artificielle de 15 ‰ de chlorinité pendant 15 h environ. Les échantillons sont placés à une température voisine de 0 °C avec du CO₂ Mg pour éviter la dégradation plus poussée des pigments. Des échantillons témoins font preuve de la parfaite conservation de la pigmentation. Dans l'eau de chlorinité 15 ‰ où aucun phénomène bio-chimique ne pouvait être comparable les *N. ostrearia* se sont entièrement dépigmentées mais sont restées vivantes. La courbe d'absorption obtenue avec ces diatomées est portée sur la figure 30 (b). Le rapport des densités optiques de 6 200 Å à 5 500 Å monte à 1,26 et l'allure de la courbe indique une teneur relativement moindre en hexuronides.

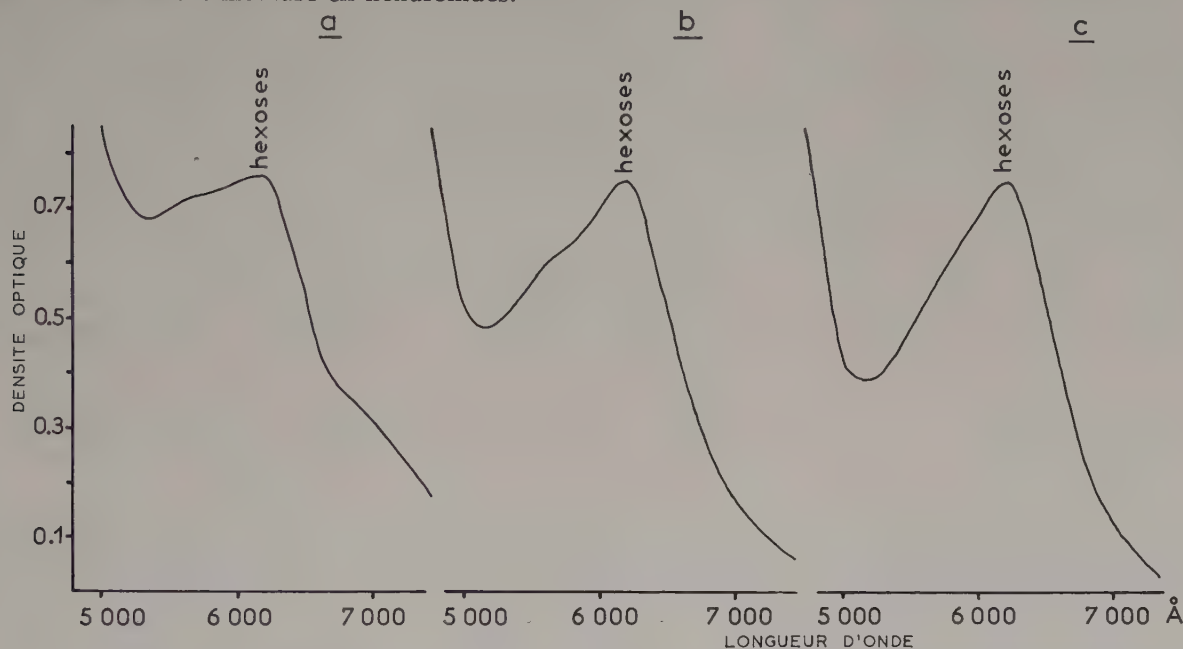


FIG. 30. — Courbes d'absorption mettant en évidence la variation du rapport des densités optiques 6 200/5 500 Å pour une teneur sensiblement constante en sucres hexoses :

- a) 1,05 : *N. ostrearia* 100 % pigmentée sans lavage,
- b) 1,26 : *N. ostrearia* après séjour dans une eau de chlorinité 15 ‰,
- c) 1,42 : *N. ostrearia* après bref séjour dans une eau distillée.

La même expérience est faite en lavant les *N. ostrearia* pigmentées à 100 % avec de l'eau distillée. La courbe d'absorption (fig. 30 c) obtenue avec celles-ci traitées extemporanément ne montre qu'un sommet important à 6 200 Å. Le rapport des densités optiques 6 200 Å/5 500 Å passe alors à 1,42.

La présence des hexuronides qui est confirmée dans *N. ostrearia* pigmentée ne paraît pas s'y maintenir au cours de la dépigmentation. Ces substances paraissent même disparaître dans certaines conditions optimales obtenues expérimentalement.

b) Pour ce qui est d'autres diatomées, les courbes obtenues dans les mêmes conditions sont presque semblables, qu'il s'agisse de *Pleurosigma elongatum* ou de *Nitzschiella longissima* ; le rapport des densités optiques 6 200 Å/5 500 Å est respectivement de 1,16 - 1,26 et de 1,33 - 1,36. Ces valeurs sont tout à fait en rapport avec celles obtenues dans le cas de *N. ostrearia* dépigmentée. *Navicula ostrearia* à son stade de pigmentation produit donc un dérivé hexuronide qui n'est ni commun à toutes les espèces végétales inférieures, ni particulier à cette diatomée.

Dans ces conditions, la production de cette substance semblerait être plutôt une conséquence du verdissement ; elle constitue très probablement un produit secondaire d'un métabolisme particulier dont l'étude approfondie ne saurait prendre place ici.

En résumé, la quantité d'hydrates de carbone particuliers contenue dans la biomasse planctonique est plus importante dans les claires blanches dépourvues de *N. ostrearia* mais chargées d'organismes chlorophylliens. Les hydrates de carbone particuliers des vases superficielles sont en quantités variables mais toujours en rapport avec la teneur en chlorophylles. Cette corrélation reste constante dans les claires pigmentées ou non malgré les submersions dues aux marées qui entraînent une dilution de ces substances.

La production par les diatomées d'hydrates de carbone sous la forme hexose est générale ; elle est en rapport inverse avec la présence de *N. ostrearia* puisque la pigmentation de cette navicule est corrélative d'une disparition des organismes chlorophylliens. Ainsi, les claires blanches ont une forte teneur en chlorophylles et en hydrates de carbone mais la prolifération de *N. ostrearia* pigmentée amène une régression simultanée des pigments chlorophylliens et des hydrates de carbone sans rapport apparent avec la présence des huîtres dans la claire.

Par les courbes d'absorption avec le réactif à l'anthrone obtenues sur des claires différentes nous avons pu établir qu'une plus forte teneur en hexuronides existe en présence de *N. ostrearia* pigmentée. L'absorption spectrale observée avec la même technique expérimentale, mais sur des navicules pigmentées isolées, a confirmé la présence de ces substances dont la teneur diminue avec la dépigmentation de *N. ostrearia*. Cette navicule, dans cet état, n'en contient d'ailleurs pas davantage que les diatomées benthiques courantes et leur présence paraît donc dépendre du verdissement.

On peut dire que les hydrates de carbone sous la forme hexose sont une production naturelle des diatomées et *Navicula ostrearia* n'y fait pas exception. La présence de certains dérivés hydrocarbonés paraît être, dans l'état des connaissances acquises, une conséquence possible mais non une cause déterminante du phénomène du verdissement, lequel est indépendant de la présence des huîtres immergées dans l'une des claires expérimentées.

3° Les hydrates de carbone particuliers et leur relation avec les réserves lipidiques cellulaires.

RANSON (1927) a lié la présence des gouttelettes huileuses ou oléoplastes observés dans *N. ostrearia* pigmentée ou non à la production de marennine laquelle ne s'apparente pas aux caroténoïdes non-astaciens comme nous l'avons établi. Les chercheurs actuels (STRICKLAND, 1960) considèrent que les hydrates de carbone sont associés à la silice des frustules de diatomées tout autant que leurs chlorophylles sont liées à des molécules de protéines et de substances lipidiques. La production de la plupart de ces corps fait partie d'un métabolisme normal. Mais leur teneur souvent reflétée par la quantité d'azote dépend d'un grand nombre de conditions physiologiques encore mal connues. Il est certain que les substances lipidiques qui se présentent sous deux formes, réserve ou constitution des tissus, peuvent être produites à partir des hydrates de carbone. Mais pour cet auteur ce phénomène caractérise les cellules appauvries et peut se poursuivre longtemps après que la photo-synthèse ou la division cellulaire ait cessé. L'apparition de substances grasses qui maintiennent à la surface des claires les frustules provenant des végétaux morts apparaissant au moment de la pigmentation intense de *N. ostrearia* rattache parfaitement ce phénomène de dégénérescence cité par STRICKLAND à la pigmentation de cette navicule connue désormais comme un processus chlorotique.

La production des hydrates de carbone et celle des graisses, même si elles sont corrélatives, sont en tout cas très fluctuantes chez les diatomées puisque PARSONS et coll. (1961) citent les valeurs de 10 à 21 pour le rapport hydrates de carbone/chlorophylle *a* et de 5 à 10 pour le rapport graisses/chlorophylle *a*. La quantité de ce pigment à la base de la productivité primaire conditionne tout le métabolisme où les phénomènes de phytosphorylation peuvent jouer un rôle important (fixation de CO₂ et simultanément transferts de phosphates, synthèses des lipides et des protéines) (JAVILLIER et coll., 1964). Cet enchaînement d'activités physiologiques diverses de production et de transformation pigmentaire dans des limites étroites de pH (BACHRACH et coll., 1936 ; JULIEN et RICHARD, 1936) aboutit à la pigmentation de *N. ostrearia* et mérite, on le voit, des recherches plus poussées ; ces recherches porteraient, par exemple, sur le comportement des ions à action antagoniste (homéorapie de PORA, 1960, ou sur l'action catalytique d'enzymes telles que les chlorophyllases dans le processus de dégradation pigmentaire, STRICKLAND, 1960 ; les carboxylases dans la fixation du carbone ; activations et inhibitions du ribulose-diphosphate-carboxylase, JAVILLIER, 1959).

Conclusion du chapitre.

La pigmentation *in situ* de *Navicula ostrearia* est un phénomène chlorotique correspondant à une bio-dégradation chlorophyllienne ; la diminution simultanée de la quantité de chlorophylles *a* et *c* s'accompagne d'une augmentation de la teneur en pigments détritiques. Le verdissement de la claire est la traduction écologique de ce phénomène. Il se retrouve de l'amont à l'aval de la Seudre bien qu'à des degrés divers et même en une région fort différente puisque les claires y sont alimentées par les eaux d'estuaire de la Gironde. Ce verdissement apparaît en période d'alimentation ou de non-alimentation mais la disparition des chlorophylles *a* et *c* est toujours corrélative de la formation de phéo-pigments. Elle n'a pas de rapport avec la teneur en caroténoïdes, mais la variation de celle-ci montre un changement du métabolisme.

Il s'établit dans la claire un écosystème entre *N. ostrearia* pigmentée et la flore chlorophyllienne active. Les séquences résultantes correspondent, avec des degrés variables, à une alternance : flux d'énergie - état chlorotique, qui est la *base fondamentale du comportement d'une claire*.

Le déclenchement du phénomène est sans rapport avec la présence des huîtres ou avec celle des hydrates de carbone. Ceux-ci, plus repérables dans la biomasse qu'à l'état dissous, ne sont qu'une production normale des organismes végétaux et leur teneur est de ce fait plus importante dans les claires blanches. La production des hydrates de carbone, celle des chlorophylles et des caroténoïdes et celle des protéines et des lipides qui leur sont associées, sont en rapport avec le métabolisme perturbé de *N. ostrearia*. Le processus de transformation pigmentaire qui en résulte est lié à un ensemble d'activités physiologiques complexes non encore étudiées.

CHAPITRE VII

CONDITIONS ET FACTEURS DE VERDISSEMENT DE L'HUITRE EN CLAIRE

Comme nous l'avons montré, la claire constitue un milieu déjà bien différent de la zone littorale intercotidale proprement dite et cette particularité lui confère précisément des propriétés et des aspects peu communs. Les phénomènes qui s'y déroulent sont sous l'interdépendance du milieu hydro-biologique et benthique et de ses variations (MOREAU, 1968). Cela nous amène tout naturellement à envisager les conditions qui permettent le verdissement et les facteurs qui favorisent plus ou moins le déroulement de ce phénomène biologique inséparable de la claire.

La disparition de chlorophylles, l'apparition de certains pigments, leur relation entre eux posent, on l'a vu, la question primordiale de la productivité primaire sans cesse bouleversée par l'apparition ou la disparition de *Navicula ostrearia*. Des éléments biogènes, des facteurs physiques, météorologiques, biochimiques, mécaniques paraissent de toute évidence jouer un rôle important sur le comportement de *N. ostrearia*. Ainsi LAFUSTE (1954) avait tenté de mettre en évidence divers facteurs pédologiques du verdissement dont les phosphates constituaient le plus important. A ce sujet LA-DOUCE (1953) avait cité l'observation selon laquelle l'apport de superphosphate produit un verdissement plus régulier et plus persistant ; des observations similaires avaient été faites dans la région de Marennes (ANONYME, 1954). Productivité et facteurs divers énumérés plus haut sont donc les centres d'intérêts sur lesquels s'articulent les recherches exposées dans ce chapitre.

I. - Productivité et verdissement.

1° Rôle du phosphate dans le cycle bio-chimique de la productivité, son importance dans le phénomène du verdissement.

GOLDBERG, WALKER, WHISENAND (1951) se basant sur le rôle important d'index de nutrition accordé au phosphate par RILEY en 1949, ont mis en évidence à l'aide d'un traceur radioactif (le phosphore ^{32}P) et de cultures pures d'*Asterionella japonica*, certains faits concernant ce sel nutritif, en particulier :

- a) le contenu des diatomées en phosphate varie en fonction linéaire de celui du milieu ;
- b) la fraction de phosphate labile assimilable se maintient en quantité limitée, le reste étant adsorbé par le fond ;
- c) la déperdition du phosphate utilisé en fonction de la croissance exponentielle des diatomées.

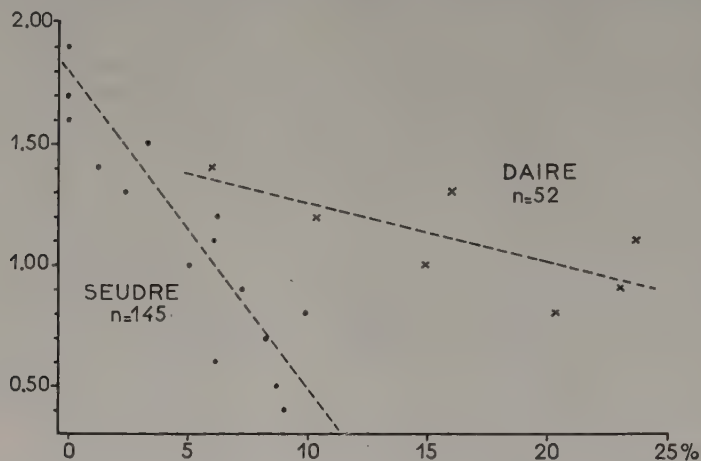


FIG. 31. — Corrélation entre le rapport des pigments chlorophylles totales/caroténoïdes non-astacien (en ordonnée) et le verdissement exprimé en % de *N. ostrearia pigmentaria* (en abscisse).

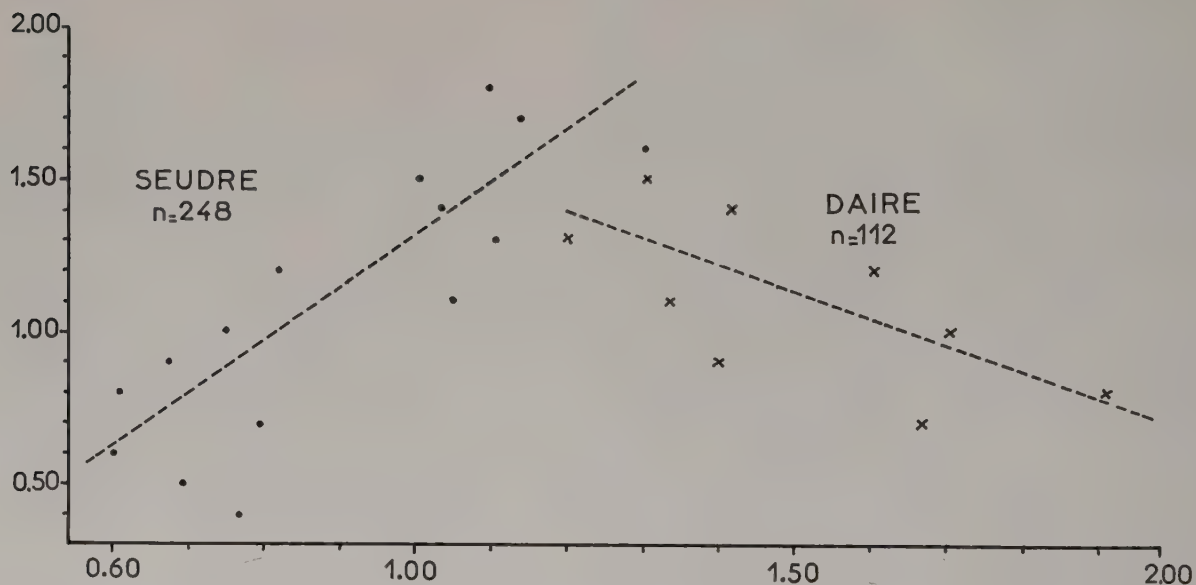


FIG. 32. — Corrélation entre le rapport chlorophylles totales/caroténoïdes non-astaciens (en ordonnée) et la teneur moyenne (surface et fond) en phosphates inorganiques dissous exprimée en $\mu\text{g at.P/1}$ (en abscisse).

On doit tenir compte en effet de la faculté qu'ont les végétaux unicellulaires de stocker l'élément phosphoré qui excède leurs besoins normaux et de le libérer au cours des mitoses successives (STRICKLAND, 1960). Le contenu en phosphore dépend donc du milieu de croissance et de la croissance elle-même. Par ailleurs KETCHUM et coll. (1957-1958) accordent au rapport chlorophylles sur caroténoïdes la valeur d'un « repère » important où le phosphore joue un rôle dans les phénomènes

anaboliques, en admettant toutefois qu'aux faibles teneurs en chlorophylles la quantité des phosphates peut rester relativement importante même à l'état détritique. Il ne faut négliger en outre l'apport régulier dans cette région ostréicole de phosphates inorganiques d'origine océanique (MOREAU, 1967).

Ces rappels fondamentaux de la physiologie phosphorée ont tenu la plus grande place dans ces recherches. Ainsi la figure 31 met en évidence, en deux secteurs distincts, le rapport des pigments chlorophylliens et caroténoïdes non-astaciens en fonction du verdissement exprimé en pourcentage de *N. ostrearia* pigmentée. Celui-ci est en effet très différent dans les deux régions. Celle de Daire offre un fort pourcentage de ces navicules atteignant 24 % de moyenne, ce qui correspond à un rapport chlorophylles sur caroténoïdes de 0,80 à 1,40, c'est-à-dire plus limité que celui obtenu dans la région

de la Seudre (0,40 à 1,90) où le verdissement ne dépasse pas 10 % de moyenne. La figure 32 établit par ailleurs la relation pour ces deux régions entre la teneur en phosphates et le rapport de ces pigments. Les limites de variations de celui-ci restent évidemment les mêmes que dans la figure 31. Mais la teneur en phosphates se maintient dans des limites très différentes, soit : 0,60 à 1,31 $\mu\text{g.at.P./l}$ en Seudre et 1,20 à 1,91 $\mu\text{g.at.P./l}$ à Daire. Il est plus remarquable encore de comparer les figures 31 et 32 :

dans la région de Daire le rapport chlorophylles/caroténoïdes varie en raison inverse du pourcentage de *N. ostrearia*, de la teneur en phosphates, ces deux dernières variables sont en corrélation ;

dans la région de la Seudre le rapport chlorophylles/caroténoïdes varie en sens inverse du pourcentage de *N. ostrearia* et en raison directe de la teneur en phosphates, ces deux données ne varient plus ici parallèlement.

Les claires de Daire très pigmentées, à forte teneur en phosphates, ont donc un rapport de pigments traduisant une diminution plus importante des chlorophylles par rapport aux caroténoïdes ; or, il est bien connu que ces derniers ont une résistance supérieure aux agents extérieurs de dégradation (STRICKLAND, 1960).

D'autre part, KETCHUM et coll. (1957-1958) ont mis en rapport pour les eaux côtières et littorales la chlorophylle *a*, principal pigment assimilateur, et la teneur en phosphore particulaire dont les variations sont comparables à celles du phosphore inorganique (KETCHUM et coll., 1955). Cette observation a inspiré les recherches dans les deux régions étudiées et nous avons établi deux diagrammes de dispersion (fig. 33) déterminant pour chaque

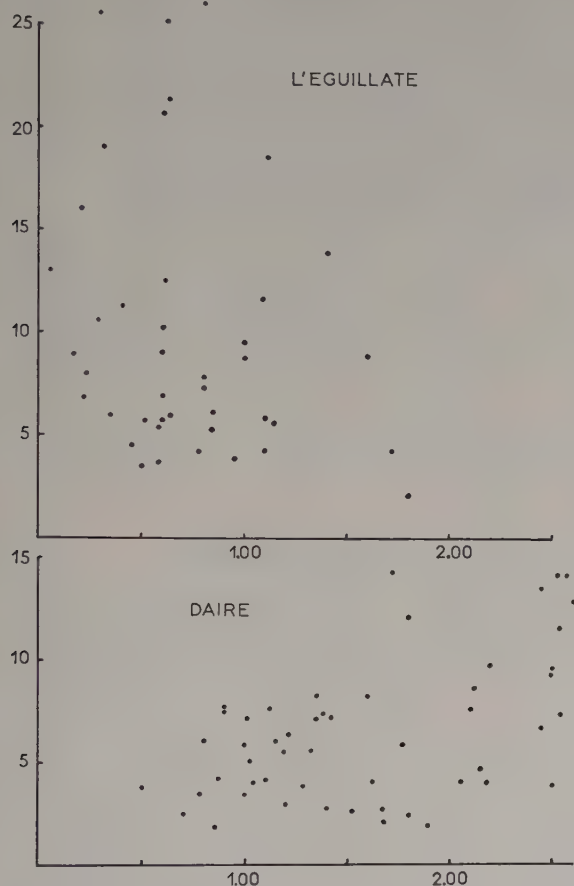


FIG. 33. — Corrélation entre la teneur en chlorophylle *a* en $\mu\text{g./l}$ (en ordonnée) et celle en phosphates inorganiques dissous ($\text{PO}_4\text{—P}$) en $\mu\text{g.at.P./l}$ (en abscisse) pour la période d'août 1966 à mars 1967 dans les claires de l'Eguillate et de Daire.

région des limites différentes, précisées ci-après :

	Chlorophylle <i>a</i> en $\mu\text{g./l}$	($\text{PO}_4\text{—P}$) en $\mu\text{g.at.P./l}$
L'Eguillate (verdissement faible)	3,50 à 26,00	0,16 à 1,60
Daire (verdissement intense)	1,70 à 14,20	0,50 à 2,58

Mais l'étude de l'évolution de la teneur en phosphates en fonction du verdissement ne serait pas complète, surtout considérée dans ses aspects généraux, sans une étude cinématique corrélative de ces deux données principales. Ainsi la figure 34 établit les variations de celles-ci de septembre 1966 à janvier 1967, la saison automnale étant particulièrement propice à l'étude du verdissement en claires.

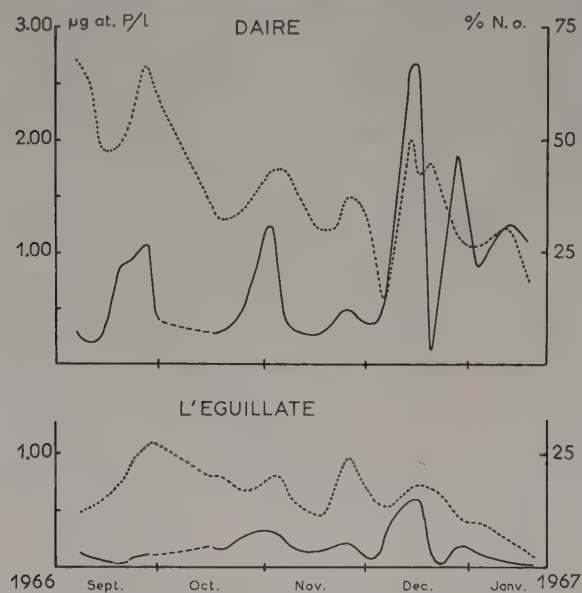


FIG. 34. — Variations de la teneur moyenne des claires étudiées en deux secteurs différents en phosphates inorganiques dissous (pointillé) exprimé en $\mu\text{g at. P/l}$ (ordonnée de gauche) en fonction du verdissement (% de *N. ostrearia* pigmentée, trait plein ; ordonnée de droite), de septembre 1966 à janvier 1967.

Ainsi, ces données permettent de préciser : le rôle toujours favorable des phosphates inorganiques dans le verdissement et la nécessité de la présence de ce sel nutritif pour la survie chlorophyllienne et la productivité bio-chimique des claires ; les variations bio-géographiques du pourcentage des *N. ostrearia* pigmentées et du rapport chlorophylles/caroténoïdes qui correspondent à des teneurs différentes en phosphates inorganiques ; la diminution plus importante des chlorophylles par rapport aux caroténoïdes non-astaciens dans les claires très pigmentées.

Le rapport de ces pigments et ses variations témoignent d'un changement du métabolisme en rapport avec le verdissement.

2° Productivité biologique des claires ; sa relation causale avec le verdissement.

En s'inspirant des notes de STEEMANN-NIELSEN (1952, 1958) WINBERG (1958), FEDOSOV (1958) et de M.-L. FURNESTIN (1964), il a été effectué un certain nombre de mesures de productivité à l'aide des dosages d'oxygène dissous en utilisant la technique des flacons clairs et sombres. L'installation qui nous a permis les résultats exposés ci-après est montrée sur la figure 35 en position de flottaison.

Le tableau 6 relate un certain nombre de ces expériences de mesures de la productivité aussi comparables que possible, compte tenu de la durée d'insolation ⁽¹⁾. Dans chacune de ces expériences le pourcentage des *Navicula ostrearia* est resté nul ou stable, a diminué ou s'est accru. La période estivale réputée peu favorable au verdissement, coïncide avec la haute teneur en pigments ; le rapport de la productivité nette à la productivité brute est très élevé (0,85 - 0,98). La période automnale, en rapport avec le déclin naturel des organismes chlorophylliens, voit l'apparition bien connue des navicules pigmentées. Corrélativement le rapport de productivité s'abaisse (entre 0,30 et 0,04) compte tenu des phénomènes d'oxydation et de la respiration des organismes benthiques et planctoniques.

Quoique obligatoirement limitées en nombre, ces expériences montrent la rapidité des phénomènes de verdissement ; elles rappellent et confirment leur rapport avec les chlorophylles. En même temps elles établissent un lien entre le verdissement et la photo-synthèse avec évidemment autant de précisions que peut en apporter la méthode de Winckler utilisée dans les meilleures conditions.

(1) Les expérimentations *in situ* pour la mesure de la productivité primaire ont été faites dans des conditions identiques : claire non-alimentée, vent nul, pas de pluie. Pour être comparables les mesures ont été faites exclusivement sur la claire 2 située à l'Eguillate qui constitue dans ses caractéristiques générales un excellent échantillon de ce milieu. Divers essais préliminaires avaient été faits en d'autres claires proches du laboratoire afin de tester la technique mais les résultats n'ont pas été retenus ici.

YENTSCH et coll. in STRICKLAND (1960) ont établi une relation entre la productivité et la teneur en pigments et pour eux le rapport de productivité nette/brute qui donne une indication de l'activité métabolique des cellules correspond aux valeurs de : 1,00 à 0,90 pour des cellules en voie de croissance ayant une activité normale dans la zone photique, et de 0,20 et au-dessous pour des organismes végétaux très chlorotiques. Les valeurs portées sur le tableau 6 confirment bien cet état chlorotique déjà signalé en explication du verdissement.

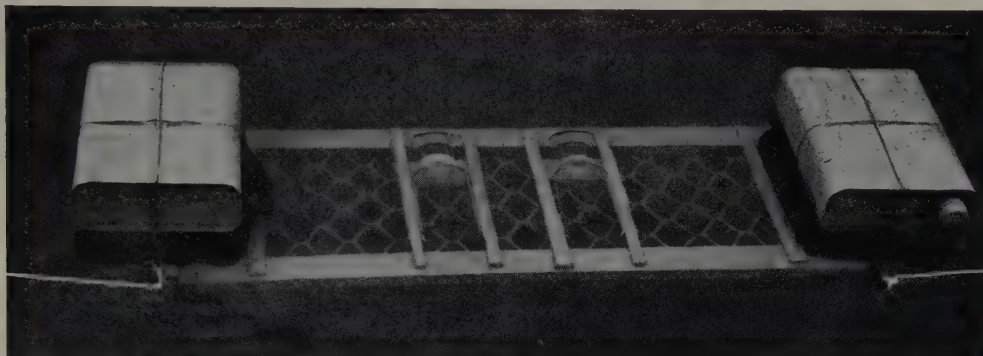


FIG. 35. — Radeau expérimental utilisé pour les mesures de la production primaire.

Ces résultats établissent ou confirment pour les claires pigmentées l'aspect chlorotique du milieu et la haute teneur en phosphates inorganiques. Ils ne sont pas contradictoires, la disparition des organismes chlorophylliens a pour conséquence une non-utilisation des phosphates amenés de l'extérieur ou libérés dans le milieu. *Navicula ostrearia*, qui conserve pendant sa période de pigmentation ses facultés de multiplication (BACHRACH, 1935) et qui ne perd pas toutes ses chlorophylles

	Mois	Rapport de productivité nette/brute	<i>Navicula ostrearia</i> (en %)		Teneur en chlorophylles (en µg/l)		Enso- leillement	Observations
			lever du soleil	coucher du soleil	lever du soleil	coucher du soleil		
Claires blanches d'été	Juin	0,98	0	0	34,70	51,85	nul	pigment.
		0,85	0	0	70,49	65,04	total	pigm. stable
Claires pigmentées d'automne	Sept.	0,21	0	10	12,84	11,33	nul	pigment.
		0,26	10	10	18,94	14,26	total	pigm. stable
		0,14	3	0	11,24	12,31	total	dépigment.
	Oct.	0,11	3	3	12,14	11,27	nul	pigm. stable
		0,30	11	0	12,46	15,12	total	dépigment.
	Nov.	0,04	2	10	9,62	8,30	partiel	pigment.

TABL. 6. — La productivité primaire dans les claires, sa relation avec le verdissement (% de *N. ostrearia* pigmentée) et avec la teneur en chlorophylles.

(comme nous l'avons montré au chapitre VI), utilise avec profit ce phosphore inorganique, les variations du rapport chlorophylles sur caroténoïdes en sont le témoignage. Cependant, la variabilité si importante de la teneur en phosphates associée à des facultés d'adsorption, d'ailleurs réversibles, paraît dépendre d'équilibres bio-chimiques déterminés, où le phosphore joue un grand rôle, et qui peuvent être en relation avec la nature variable des sols qui reste à étudier. A ce sujet il doit en effet être rappelé la possibilité de désorption du phosphore naturellement fixé par les particules tensio-actives de vase. Utile par elle-même au verdissement, la teneur en phosphates paraît donc surtout résulter de divers équilibres sans doute très complexes.

II. - Actions des divers facteurs physico-chimiques, mécaniques et météorologiques.

La salinité, la température de l'eau et d'autres facteurs physico-chimiques, les variations mécaniques et météorologiques ont déjà fait l'objet de diverses notes citées dans les bulletins bibliographiques de RANSON (1952, 1968). De telles données, déjà anciennes et non négligeables doivent être désormais considérées en fonction des conclusions nouvelles expliquant le processus du verdissement, en fonction aussi des divers métabolites composants du milieu et des fluctuations diverses

<i>Navicula ostrearia</i> pigmentée (en %)	l'Eguillate (N = 38)		Daire (N = 47)	
	NA	A	NA	A
0	0,538	0,736	1,875	2,750
1 à 10	0,647	0,720	1,607	2,046
11 à 20	0,545	0,840	1,308	1,056
21 à 30	—	—	1,650	0,941
31 et plus	—	—	1,386	1,181

TABL. 7. — Valeur moyenne de la teneur en phosphates inorganiques (en $\mu\text{g. at.P/1}$) dans les claires en rapport avec le verdissement. A, claires alimentées ; N.A., claires non-alimentées.

encore imprécises de celui-ci. Ainsi l'alimentation des claires, leur renouvellement périodique, peuvent entraîner des changements dans le verdissement ; ceux-ci peuvent eux-mêmes être en rapport avec les modifications mécaniques des claires qui ne sont pas sans liaison avec les divers modes de préparation variant d'un secteur à l'autre.

Claires	S	F	S	F
L'Eguillate (N = 76)				
Alimentées	0,608	0,506	0,965	0,854
Non alimentées	0,417	0,412	0,761	0,692
<i>N. ostrearia</i> % moyen..	6,0		2,3	
Daire (N = 94)				
Alimentées	1,244	1,230	1,679	1,828
Non alimentées	1,305	1,255	1,815	1,863
<i>N. ostrearia</i> % moyen..	28,7		19,3	

TABL. 8. — Valeur moyenne de la teneur en phosphates inorganiques dissous (en $\mu\text{g.at.P/1}$) en surface (S) et au fond (F) dans les claires alimentées et non-alimentées en rapport avec le verdissement. Ces valeurs correspondent respectivement (de gauche à droite) aux claires 2 et 3 de l'Eguillate et I et II de Daire.

Phosphates. La teneur en phosphates inorganiques peut d'abord être considérée en valeur absolue ; les moyennes globales rassemblées dans le tableau 7 nous montrent que les valeurs sont systématiquement plus élevées à Daire qu'à l'Eguillate et que la différenciation des claires alimentées et des claires non-alimentées confirme l'apport de l'extérieur en phosphates inorganiques comme nous l'avons précisé plus haut.

Il est également logique de penser que dans la période de non-submersion des claires (coef. inférieur à 65 - 70) des modifications sensibles de la teneur en phosphates inorganiques peuvent apparaître entre la surface et le fond. Celles-ci semblent tout à fait incertaines ; le tableau 8, considéré dans son ensemble, indique une variation négligeable entre la surface et le fond que la claire soit ou non alimentée, confirme les hautes teneurs en phosphates inorganiques déjà constatées à Daire et met en évidence dans chacune des quatre claires considérées la proportionnalité directe entre le pourcentage moyen de *N. ostrearia* pigmentée et la teneur moyenne en phosphates inorganiques.

Il convient de considérer cette valeur moyenne en phosphates non en valeur absolue, mais en rapport avec les pigments chlorophylliens dont l'évolution suivant la pigmentation de *N. ostrearia* est déjà connue. Le rapport R : $(\mu\text{g.at. (PO}_4\text{-P)} \times 1\,000) / \mu\text{g chlorophylles totales}$ indique le nombre de $\mu\text{g.at.}$ de phosphore inorganique sous la forme (PO_4) disponible pour 1 mg des diverses chlorophylles. Ce rapport, faible dans les claires blanches en raison de leur richesse en pigments chlorophylliens, augmente progressivement à mesure du verdissement, passant ainsi quel que soit l'état

<i>N. ostrearia</i> pigmentée (en %)	Seudre (N = 194)			Daire (N = 67)		
	moy. (PO ₄ -P) (en $\mu\text{g at. P/l}$)	S ‰	S/P	moy. (PO ₄ -P) (en $\mu\text{g at. P/l}$)	S ‰	S/P
0	0,597	27,05	45,3	2,412	32,00	13,2
1 à 10	0,658	26,57	40,3	1,762	30,26	17,1
11 à 20	0,720	25,33	35,1	1,228	28,32	23,0
21 à 30	—	—	—	1,295	28,30	21,8
31 et plus	—	—	—	1,283	28,15	21,9

TABL. 9. — Variation suivant le verdissement de la teneur moyenne en phosphates inorganique dissous et de la salinité pour les mêmes échantillons. L'index S/P donne la mesure des variations, d'un secteur à l'autre, du rapport des chlorures et des phosphates en solution.

de submersion de la claire d'une valeur minimale moyenne de 40 à une valeur maximale moyenne proche de 169. Inspiré de PARSONS, STEPHENS et STRICKLAND (1961) il met bien en évidence l'utilisation du phosphore par la navicule pendant sa période de pigmentation, du moins dans les premiers stades de son développement benthique.

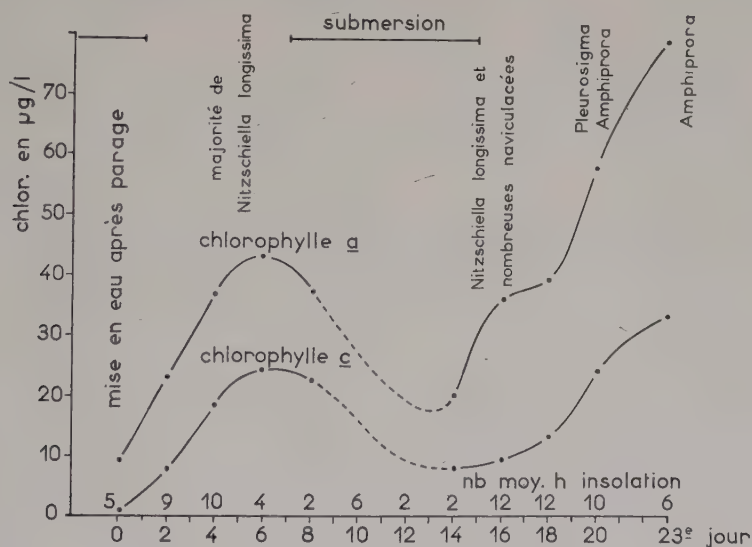


FIG. 36. — Evolution des pigments et de la flore d'une claire en mai-juin après l'opération du « parage ».

Pluviosité et salinité. Les variations de la pluviosité ont attiré l'attention de nombreux auteurs cités au début de ce mémoire parmi lesquels RANSON (1943). Les professionnels eux-mêmes, très attentifs par préjugé ou par tradition aux phénomènes météorologiques, attachent beaucoup d'importance aux régimes pluviaux. Pourtant notre étude comparée de la moyenne des précipitations atmosphériques et du verdissement n'a montré aucun rapport de cause à effet. Il semble bien que la vie benthique des navicules ne soit guère influencée par la pluviosité ; l'eau douce qui stagne d'abord en surface se mélange

très progressivement à l'ensemble et ne paraît pas perturber le milieu hydrologique au voisinage du fond. D'ailleurs, la salinité de surface et celle du fond qui en est la résultante ne subissent de variations importantes, plus sensibles au bord de la claire, que dans des conditions extrêmes telles que fortes précipitations en période de non-submersion ou absence de pluies et forte insolation dans la même période. Dans le premier cas, nous avons observé le verdissement et même l'accentuation de celui-ci (sal. 18,8 ‰) dans le second la pigmentation des navicules n'a jamais subi de modifications (sal. de 25 à 35 ‰).

Pour un pourcentage de navicules variable le tableau 9 rassemble des mesures de phosphates et de salinités que nous avons faites simultanément pour un même nombre total de 261 échantillons répartis en deux régions à verdissement différent. Ce tableau met également en valeur une donnée intéressante qui est le rapport salinité sur phosphate. Les variations dans ces deux secteurs sont assez inattendues puisque l'index obtenu passe de 13,2 - 21,9 à Daire à 45,3 - 35,1 dans les claires de la rive gauche de la Seudre. Les modifications ioniques supposées par BACHRACH (1935) pourraient trouver là une partie de leur justification.

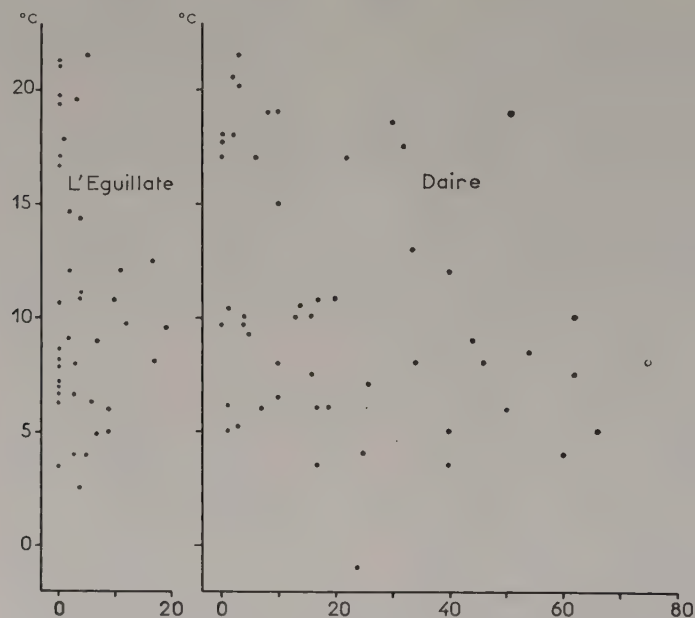


FIG. 37. — Corrélation entre température de l'eau (en ordonnée) et le verdissement exprimé en % de *N. ostrearia pigmentée* (en abscisse).

Actions mécaniques. Enfin, il a paru nécessaire d'analyser l'évolution des pigments d'une claire mise en eau à la suite de l'opération mécanique du parage que nous avons décrite. Les ostréiculteurs admettent couramment, en accord d'ailleurs avec les affirmations déjà anciennes de RANSON, l'apparition plus fréquente des navicules pigmentées immédiatement après le parage saisonnier. Cette opinion est en contradiction avec les observations scientifiques actuelles, puisque cette opération se déroule à une époque d'intense développement végétal incompatible avec le verdissement ; elle méritait cependant une vérification. La figure 36 montre l'évolution de la teneur en chlorophylles a et c en rapport avec la submersion et avec la durée sur deux jours de l'insolation. Celle-ci permet un intense développement des diatomées dont les genres dominants vont des *Nitzschiella* très petits aux *Pleurosigma*, *Amphora* et *Amphiprora* de taille plus grande. Cette évolution végétale est parfaitement conforme à celle d'un milieu autotrophe en plein développement dont l'activité photo-chimique est intense. Il n'y a pas été décelé la moindre trace de *N. ostrearia* même dépigmentée.

La submersion d'une claire, résultant du jeu des marées, n'apporte pas, a priori, de modifications importantes aux fluctuations habituelles du verdissement. Cependant le niveau d'eau est en rapport avec la hauteur de la dérase par où les eaux de la claire communiquent avec l'extérieur. La

hauteur de cette dérased permet comme on le sait de régler la profondeur : celle-ci qui ne dépasse guère 40 à 45 cm est en général inférieure. Les relevés suivis de cette profondeur témoignent incontestablement d'une relation entre un verdissement plus intense et une profondeur plus faible ; les claires de Daire ont toujours une hauteur d'eau comprise entre 10 et 25 cm. Dans la complexité des facteurs qui agissent sur le verdissement, cette observation ne paraît pas négligeable.

Quelle que soit la conséquence sur la salinité des précipitations atmosphériques on ne peut passer sous silence les effets mécaniques des pluies. Celles-ci, en ravinant le bord des claires, produisent une floculation de micro-particules. La turbidité qui en résulte et qui se répand dans la claire réduit l'insolation du fond et inhibe la photo-synthèse, ce qui ne peut que faciliter une dégradation chlorophyllienne. Pendant toute une saison nous avons pu observer des navicules bien pigmentées (jusqu'à 16 %) dans une claire très turbide de La Tremblade ; cet état était d'ailleurs facilité par la nature du terrain.

Température. La température de l'eau à laquelle les ostréiculteurs accordent empiriquement tant d'intérêt a été mesurée régulièrement à la même heure. Nous avons pu la mettre en rapport avec le pourcentage au même moment de *N. ostrearia* pigmentée. La figure 37 établit sous forme de diagramme de dispersion les limites de ces deux variables :

à l'Eguillate pour un intervalle de température de + 2° à 23 °C le verdissement ne dépasse pas 19 % de *N. ostrearia* pigmentée ;

à Daire pour un intervalle de température de — 2° à 23 °C le verdissement s'étend jusqu'à 75 %. A noter que dans cette région la pigmentation des navicules a été observée sous plusieurs centimètres de glace.

Dans les deux cas le nuage de dispersion est homogène et ne traduit pas sur la figure de solution de continuité.

La température de l'eau doit être rapprochée de la teneur en phosphates inorganiques puisque celle-ci est corrélative du verdissement lui-même. Des mesures simultanées ont été faites à l'Eguillate et à Daire :

T°	0	5	10	15	20
L'Eguillate (N = 38)	—	0,506	0,702	0,740	0,754
Daire (N = 47)	1,130	1,105	1,380	1,588	2,517

La teneur moyenne en phosphates décroît en même temps que la température et peut traduire pour les valeurs les plus faibles une faculté d'adsorption moindre ce qui est habituel dans les zones d'estuaires comme l'a montré ROCHFORD (1951).

Insolation. L'insolation ou la durée d'ensoleillement est à la base de la photo-synthèse ; la production brute d'oxygène parallèle à la synthèse carbonée en dérive directement. Ces phénomènes sont liés ; ils seront donc examinés dans le même chapitre.

1) La durée d'insolation par jour agit directement sur le verdissement puisque nous avons constaté, du lever au coucher du soleil, (tabl. 6) une modification du verdissement en même temps qu'un changement dans la teneur en pigments chlorophylliens.

D'octobre à décembre 1965 (fig. 38) puis de septembre 1966 à janvier 1967 (fig. 39) un certain nombre de claires ont été suivies et les graphiques précisent le pourcentage moyen de *N. ostrearia* pigmentée. La durée d'insolation, donnée très fluctuante d'un jour à l'autre, est exprimée par moyennes de cinq jours portées sur les figures en regard des dates correspondantes.

Nous remarquons très souvent une baisse de verdissement en rapport avec une augmentation de la durée d'insolation ou vice-versa ; ceci est particulièrement remarquable début et fin octobre ainsi qu'à la mi-décembre 1965. Le même phénomène s'observe en novembre et en décembre 1966 et se poursuit quelque peu en janvier 1967. La pigmentation de *N. ostrearia* paraît bien favorisée par un manque d'éclairement et cette observation, encore qu'incomplète, corrobore les précédentes. D'ailleurs, les nombreuses analyses faites depuis plusieurs années ont permis d'établir l'intensité et les diverses périodes de verdissement des claires en fonction de l'insolation moyenne mensuelle

à la Coubre (fig. 1). La figure 40 résume ces données et permet de dire que la période de verdissement la plus intense s'étend de septembre à janvier, pouvant localement se poursuivre jusqu'en

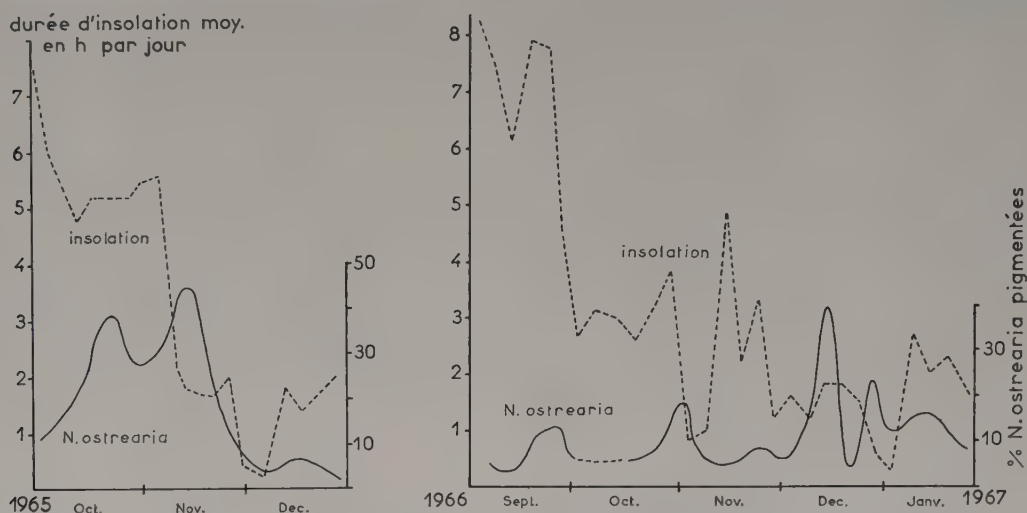


FIG. 38 et 39. — *Insolation moyenne en rapport avec le verdissement dans les claires expérimentales de la Seudre en 1965 (fig. 38 à gauche), de Daire et de la Seudre (Eguillate) en 1966-67 (fig. 39 à droite).*

février à Daire et dans la région et que la disparition des chlorophylles parallèle au verdissement est bien corrélative d'une perte de photo-synthèse en rapport avec une diminution considérable de l'insolation.

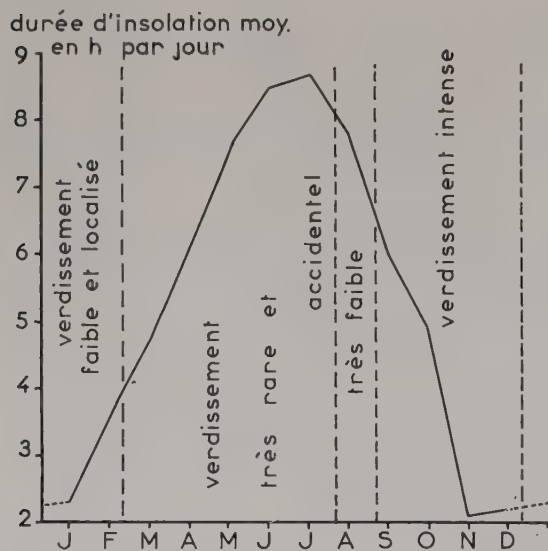


FIG. 40. — *Insolation moyenne mensuelle à la Coubre (1961 à 1967) et le verdissement moyen simultané dans les claires de la région.*

dissous ; ces valeurs qui accusent un maximum à 3,3 ml/l en début d'après-midi restent plus faibles en chlorophylles en rapport avec la saison :

Claire a	34,70 à 4 h 20	51,00 à 19 h 50
« b	25,50 à 4 h 35	30,17 à 19 h 40
« c	9,43 à 15 h 00	

L'état chlorotique qui définit le verdissement est donc avant tout saisonnier. Il est en accord avec les variations de la teneur en chlorophylle a déjà observées (MOREAU et TROCHON, 1967).

2) L'éclairement et la photo-synthèse se traduisent par une production mesurable d'oxygène (FEDOSOV, 1957-1958). En dehors des phénomènes de productivité étudiés plus haut nous avons défini les variations diurnes de la teneur en oxygène dissous en rapport avec le verdissement.

La figure 41 établit en juin, pour deux claires différentes, la teneur en oxygène dissous exprimée en ml/l. Les courbes obtenues sont sensiblement parallèles du lever au coucher du soleil et passent par un maximum de 5,6 à 6,2 ml/l vers 15 h 00 G.M.T. La claire a perd ses navicules pigmentées, la claire b reste blanche. Dans les mêmes conditions d'éclairement, c'est-à-dire un ensoleillement total toute la journée, il avait été établi en avril pour une claire c voisine, alors exceptionnellement pigmentée (30 %), les variations de la teneur en oxygène

En comparant des claires blanches d'été à des claires légèrement pigmentées d'automne on a mesuré en outre la saturation d'oxygène au lever et au coucher du soleil. Le tableau 10 indique les valeurs trouvées. La production brute diurne d'oxygène dissous est en baisse en automne si on compare pour chaque jour les pourcentages de saturation indiqués. A ce sujet il est intéressant de noter que, d'après JITS (1959) qui a étudié les conditions d'estuaire, une perte extrême d'oxygène peut entraîner une désorption partielle des phosphates inorganiques ce qui pourrait être la cause de la forte teneur en phosphore déjà signalée.

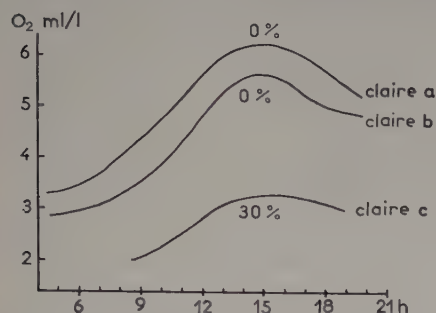


FIG. 41. — Variations diurnes de l'oxygène dissous et pourcentage de *N. ostrearia* pigmentées.

Données complémentaires.

Au terme de ce chapitre il paraît opportun de rendre compte de quelques éléments statistiques relatifs soit à l'activité chlorophyllienne, soit à la répartition des claires diversément pigmentées dans les deux régions où nous avons expérimenté, c'est-à-dire dans les claires de la Seudre (y compris l'Eguillate) et dans les claires de Daire.

	Lever du soleil	Coucher du soleil
Eté	49	115
	60	98
Automne	58	93
	63	95
	63	104
	78	108
	83	104

TABL. 10. — Variations de la saturation en oxygène dissous du lever au coucher du soleil (en %).

Le tableau 11 indique la répartition moyenne des chlorophylles *a*, *b* et *c* trouvées dans les claires au cours d'une période normale d'utilisation (juin à décembre 1965). Quant au tableau 12, il montre la répartition suivant l'intensité du verdissement, des claires blanches moyennement pigmentées et très pigmentées (prélèvements effectués de 1965 à 1967).

Chlorophylles en % moyen			Nbre d'analyses effectuées	Claires
<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>		
50,12	31,48	18,40	25	I Daire
53,23	32,15	14,62	26	
49,10	31,90	19,00	24	2 l'Eguillate
51,10	31,73	17,17	19	

TABL. 11. — Répartition moyenne en pourcentage de la teneur en chlorophylles *a*, *b* et *c* dans les claires expérimentées à Daire et à l'Eguillate.

On observe que la teneur en chlorophylle *b* est d'une constance remarquable comme nous l'avons dit précédemment ; les chlorophylles *a* et *c* caractéristiques des diatomées se trouvent en quantités complémentaires. En outre, un nombre important de claires blanches (45 %) dans la vallée de la Seudre s'oppose à un nombre relativement très élevé de claires pigmentées (94 %) dans la région de Daire.

Conclusion du chapitre.

La pigmentation de *Navicula ostrearia* étant définie comme un phénomène chlorotique, l'importance du phosphore dans le cycle de la productivité n'en est que plus grande. La réduction des pigments assimilateurs diminue en effet l'autotrophie de la navicule qui doit faire davantage appel aux éléments biogènes du milieu. Les conditions dans lesquelles s'effectue le verdissement peuvent être diverses. Si le phosphore est considéré comme un index de nutrition et le rapport chlorophylles sur caroténoïdes non-astaciens comme une repère du métabolisme, il est évident que les conditions du verdissement sont très différentes ; c'est le cas si nous comparons les claires de la Seudre de l'amont à l'aval, à celles de Daire beaucoup plus ouvertes sur le bassin.

<i>Navicula ostrearia</i> pigmentée (en %)	Seudre	Daire
Clares blanches : 0	45	6
Clares moyennement pigmentées : 1 à 30	55	67
Clares très pigmentées : > 30	0	27

TABL. 12. — Répartition moyenne en pourcentage des claires blanches et pigmentées dans les secteurs de la Seudre et de Daire.

Le changement du métabolisme qui s'opère au moment du verdissement est en rapport direct avec les modifications de la productivité primaire à la base de toute productivité biologique. Ainsi, un abaissement considérable du rapport de productivité nette/brute, consécutif à un état chlorotique, coïncide avec l'apparition et la pigmentation de *N. ostrearia*. Le changement de ce rapport de productivité suffirait déjà à prouver la modification de l'activité métabolique qui affecte les organismes chlorophylliens et plus précisément la navicule à l'époque de ce verdissement. Les facteurs déterminants ainsi précisés se rapportent à des données biologiques et océanographiques qui ne sont pas suffisantes à elles seules. On se doit d'y associer l'aspect pédologique des claires où beaucoup de recherches pourraient être utilement entreprises pour connaître, en rapport avec le verdissement, non seulement les vases et leur substratum mais surtout les échanges sol - eau en des secteurs différents de notre région.

RÉSUMÉ, CONCLUSION GÉNÉRALE ET APPLICATION PRATIQUE DES RECHERCHES

Le pigment produit par *Navicula ostrearia* est indiscutablement à l'origine du verdissement de l'huître en claire. Avant nous, de nombreux auteurs l'ont bien établi, mais ils n'ont pu se mettre d'accord sur la nature du pigment émis : c'est un pigment caroténoïde pour RANSON (1927 b), une substance sans rapport avec ce pigment pour MITCHELL et BARNEY (1918). L'origine même de ce pigment appelé marennine fut fort discutée : c'est un produit du métabolisme des sucres pour RANSON, le résultat d'un processus pathologique pour BACHRACH (1935).

Dès lors se posèrent bien d'autres questions qui justifiaient les présentes recherches que nous récapitulerons suivant quatre thèmes principaux.

1) Les claires dans le bassin de Marennes-Oléron.

Nous avons décrit dans le détail ce milieu particulier propre à notre région et explicité ses caractéristiques qui sont celles d'une eau littorale périodiquement renouvelée où la fixation du pigment par les branchies subit naturellement des aléas tenant à la physiologie du mollusque mais aussi à la saison et au milieu lui-même. Nous avons été amené à étudier l'apport, l'adsorption et l'utilisation du phosphate, les variations de teneurs en éléments calciques et magnésiens qui constituent pour ce milieu une contribution nouvelle.

La bionomie des claires est à la base de nos travaux. Le développement intense de la flore inhibe l'apparition et la pigmentation de *N. ostrearia*, la répartition des chlorophylles, celle des organismes benthiques et planctoniques placent le phénomène du verdissement dans la voie où nous devons dès lors en trouver l'explication par des recherches *in situ*.

2) L'agent du verdissement : *Navicula ostrearia*.

La connaissance plus approfondie de *N. ostrearia* est à la base de toute expérimentation et nous avons été amené à mettre en évidence une série de faits importants :

à l'état pigmenté *N. ostrearia* a une vie exclusivement benthique,

la pigmentation de cette navicule est irréversible et sa dégénérescence chlorotique aboutit à la mort,

un processus de conjugaison assure la pérennité de l'espèce qui se multiplie par cystogamie,

la marennine est un produit à caractères détritiques mélangé à d'autres substances qui lui confèrent sa solubilité et ses caractères singuliers.

3) Le phénomène du verdissement.

Ce processus biologique n'est jamais constant. Il n'a pas de relation causale avec les caroténoïdes et il subit faiblement les variations de l'alimentation. Mais il apparaît *in situ* comme un *phénomène écologique à métabolisme perturbé* et il alterne avec le développement de la flore, laquelle amène un flux d'énergie. Cette alternance est naturellement réversible puisqu'à une nouvelle apparition de *N. ostrearia* pigmentée correspond une dégradation très importante de la chlorophylle *a* et une disparition totale de la chlorophylle *c*.

Ce phénomène entraîne la production secondaire de substances encore mal définies sans rapport obligatoire avec la production de marennine : la sécrétion ectocrine de dérivés hydro-carbonés par la flore benthique n'a pas de rapport causal avec le verdissement et est sans relation avec les huîtres et la présence de sucres en hexose, et éventuellement de substances lipidiques, est liée au développement de la flore en période surtout de non-verdissement.

4) Les conditions et les facteurs du verdissement.

L'alternance écologique qui préside au verdissement dans les claires crée des conditions particulières et fluctuantes de nutrition et d'assimilation dans les eaux en échange périodique avec le bassin et probablement avec les sols. Ce phénomène subit l'influence déterminante des conditions de productivité laquelle est en rapport direct et constant avec les variations de l'écosystème telles que l'état chlorotique et le développement végétal. Dans de telles conditions d'équilibres et de perturbations réciproques il est exposé à une conjonction de facteurs et chacun de ceux-ci ne saurait à lui seul être suffisant et déterminant. L'un ou l'autre d'entre eux peut cependant permettre un changement d'équilibre ou perturber des phénomènes de biosynthèse. Ainsi en est-il du phosphore, élément biogène noble, dont l'apport nutritionnel ou la désorption supplée à un appauvrissement général, ainsi également en est-il de la luminosité dont la perte amène une régression des chloroplastes donc du pouvoir de photo-synthèse à la base de la productivité primaire.

On peut dire ainsi, pour résumer, que la pigmentation de *Navicula ostrearia* est un *processus chlorotique correspondant à une perte de fonction* c'est-à-dire du pouvoir d'autotrophie due à la photo-synthèse. Dans la claire le phénomène prend l'allure de *séquences écologiques* particulières mais bien définies. Le verdissement est sous la dépendance de *substances biogènes* apportées de l'extérieur ou transformées sur place. Il est en étroite relation avec la *productivité primaire* et il permet ainsi, selon son intensité, de définir des claires blanches productives et des claires pigmentées d'affinage entre lesquelles s'établissent tous les degrés.

Enfin, dernière remarque, on sait que dans une claire peu remplie d'une eau très limpide exposée au chaud soleil de l'été, *N. ostrearia* peut apparaître, quoique rarement, se multiplier et se pigmenter. Nous avons observé de telles claires, par ailleurs dépourvues d'huîtres, où le même phénomène chlorotique atteint la flore benthique. Nous avons toujours pensé, car le phénomène est trop rare et trop éphémère pour être étudié, que l'insolation et la température excessives produisent un processus de photo-oxydation des chlorophylles. Dès lors la claire qui se pigmente présente les caractères de celles d'automne où le verdissement est plus général mais aussi moins brutal. Ainsi, une cause différente, incluse dans un écosystème accidentel, aboutit aux mêmes effets : dégradation chlorophyllienne, pigmentation de *N. ostrearia*.

Abordons maintenant les enseignements pratiques de ces travaux. Dans un premier ordre d'idée, nous avons remarqué que l'ostréiculteur, dans ses techniques, améliore sans doute les conditions d'engraissement en employant une hauteur d'eau minimale de 40 à 50 cm, en entretenant une flore benthique et planctonique importante, en laissant se développer une forte turbidité ; cependant, procédant ainsi, il ne facilite pas le verdissement, c'est pourquoi nous recommandons :

de réduire la hauteur de l'eau à 15-20 cm, donc la surface benthique en réglant la position horizontale de la dérase ;

d'empêcher l'introduction de gros prédateurs, en plaçant à la dérase un grillage de protection ;

d'effectuer régulièrement et au printemps, et ce n'est pas toujours le cas, le parage des claires ; cette opération devant être complétée par un repiquage dès que la vase est devenue trop importante à la suite par exemple de la stagnation d'un trop grand nombre de mollusques ;

d'enlever à cette occasion toutes les plantes aquatiques concurrentielles et de s'abstenir de les laisser sur l'abotteau où les éléments de dissémination subsistent et peuvent revenir dans l'eau.

Il est bien entendu qu'il convient de veiller à ce que les claires restent à l'abri de pollution par insecticides ou désherbants qui peuvent compromettre le verdissement.

Si ce travail a eu le mérite d'aboutir à ces conclusions il n'a pu tout expliquer. De nombreuses inconnues se présentent encore, c'est pourquoi, dans un second ordre d'idées, voyons dans quelles voies pourraient, à la lumière de nos résultats, s'orienter de nouvelles recherches sur les claires. Nous avons parlé d'une substance biogène, le phosphore ; on devrait chercher à résoudre le problème complexe se rapportant au cycle de cet élément chimique. Il serait également souhaitable de préciser celui de l'azote et du carbone en relation probable avec les sols et l'action bactérienne. Par ailleurs, il faut accorder une grande importance aux substances souvent infinitésimales dont le rôle dans le métabolisme est primordial, substances ectocrines diverses : vitamines (B 12 en particulier) hormones végétales, substances de croissance (oligo-éléments divers) dont la nécessité est largement reconnue aujourd'hui pour la constitution de milieux artificiels de culture.

Les pigments ont été explicités *in situ*. Notre souhait eût été d'approfondir par l'analyse chromatographique la connaissance des pigments naturels, mais nous n'avons pu le réaliser. Beaucoup de recherches restent donc à faire sur le milieu lui-même où d'innombrables cycles bio-chimiques et organo-minéraux y sont particuliers mais n'ont pas fait l'objet d'études. L'expérimentation *in vitro* tendant à une analyse du pigment émis et à une culture de *N. ostrearia* est susceptible d'apports scientifiques plus qu'appréciables. La nature du pigment est certainement complexe et il est probablement associé à d'autres substances dont le rôle n'est peut-être pas moindre. Sans doute sa connaissance précise pourrait amener à concevoir, par des biochimistes spécialisés, un produit de synthèse absorbable et fixable par les branchies de l'huître. Enfin, la culture, pas nécessairement abactérienne, de *N. ostrearia*, qui permettrait de trouver le milieu adéquat et de stopper en état de pigmentation, une phase écologique dite irréversible, ferait certainement avancer les recherches.

BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME, 1954. — Recherches sur la conchyliculture et sur les coquillages. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **18** (2 à 4), p. 91.
- BACHRACH (E.), 1935. — Le bleuissement des diatomées et le verdissement des huîtres. — *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **8** (1), p. 112-113.
- BACHRACH (E.) et JOUVENT (A.), 1933. — Sur la pigmentation bleue de certaines diatomées. — *Bull. Soc. linn. Lyon*, p. 36.
- 1966 (1968). — Colloque sur l'unification des méthodes d'analyse des eaux saumâtres méditerranéennes. — *Comm. int. Explor. Sci., Mer Médit.* Messina, 13. 15 avril 1966.
- BACHRACH (E.), LEFÈVRE (M.) et ROCHE (J.), 1932. — Sur la chlorophylle des diatomées normales et nues. — *Soc. Biol.*, **109**, p. 889.
- BACHRACH (E.) et SIMONET (M.), 1936. — Le phénomène du bleuissement chez les diatomées. — *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **9** (1), p. 113-116.
- BACHRACH (E.), JULLIEN (A.), LUCCIARI (N.) et RICHARD (J.G.), 1936. — Actions réciproques des diatomées des huîtres et du milieu. — *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **9** (4), p. 437-447.
- BARNES (H.), 1959. — Apparatus and methods of Oceanography. — Edit. I. Chemical. — Londres, George ALLEN and UNWIN Ltd., 342 p.
- BOCAT (L.), 1907. — Sur la marennine de la diatomée bleue. Comparaison avec la phycocyanine. — *C.R. Soc. Biol.*, **62**, p. 1 073-75.
- BOYCE (R.W.) et HERDMANN (W.A.), 1897. — On a green leucocytosis in oysters associated with the presence of copper in the leucocytes. — *Proc. Roy. Soc., Londres*, **62**, n° 379, p. 30-38. In MITCHELL (Ph.H.) et BARNEY (R.L.) (1918).
- CALVET (L.), 1909. — Contribution à l'étude du verdissement des huîtres. — *Bull. enseign. tech. prof. Pêches marit.*, juil.-sept. (Copie dactylographiée : archives lab. La Tremblade).
- 1910. — Sur la vitalité de la diatomée bleue et la possibilité de l'ensemencement de cette navicule à l'aide d'huîtres vertes. — *C.R. Soc. Biol., Paris*, **68**, p. 466-468.
- CARAZZI (D.), 1897. — Contributo all'istologia e alla fisiologia dei Lamellibranchi. Ricerche sulle ostriche verdi. — *Mitth. zool. Stat. zu Neapel*, n° 12. — In RANSON (G.) (1927 b).
- CARPENTER (J.H.), 1965. — The accuracy of the winckler method for dissolved oxygen analysis. — *Limnol. Oceanogr.*, **10** (1), p. 135-140.
- CARRIT (D.E.) et CARPENTER (J.H.), 1966. — Comparison and evaluation of currentley employed modifications of the winckler method for determining dissolved oxygen in sea water. — *J. Mar. Res.*, **24**, p. 286-316.
- CHADEFAUD (M.) et EMBERGER (L.), 1960. — Traité de botanique systématique. — Les végétaux non vasculaires (cryptogamie), **1**. — Paris, MASSON et Cie, Edit.
- CHARLOT (G.), 1961. — Les méthodes de la chimie analytique, analyse quantitative minérale. — Paris, MASSON et Cie, Edit.
- CHATIN (J.), 1892. — Le développement et le verdissement des huîtres. — *Bull. Soc. nat. Agricult. France*, **52**.
- 1894. — Nature et cause du verdissement des huîtres. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **118**.
- CHATIN (A.D.) et MUNTZ (A.), 1894 a. — Etude chimique sur la nature et les causes du verdissement des huîtres. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **118**, p. 17-23.
- 1894 b. — Conclusions relatives au parage des claires et aux causes du verdissement des huîtres. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **118**, p. 56-58.
- CHAUX-THEVENIN (M.H.), 1939. — Le verdissement des huîtres (claires de Marennes). — Communic. présentée au Congr. int. Mer, Liège.
- CHODAT, 1913. — Monographie d'algues en culture pure. Berne. — In RANSON (G.) (1927 b).
- COSTE (P.), 1861. — Voyage d'exploration sur le littoral de la France et de l'Italie. — Paris. Traduit en Anglais dans : *U.S. Comm. fish and fish.*, **8**, p. 825-883. In MITCHELL (Ph.H.) et BARNEY (R.L.) (1918).
- CREITZ (G.T.) et RICHARDS (F.A.), 1955. — The estimation and characterization of plankton population by pigment analyses - III : a note on the use of « Millipore » membrane filter in the estimation of plankton pigments. — *J. Mar. Res.*, **14**.
- DUBOIS (M.), GILLES (K.A.), HAMILTON (J.K.), REBERS (P.A.) et SMITH (F.), 1956. — Colorimetric method for determination of sugars and related substances. — *Analyt. chem.*, **28** (3), p. 350-356.
- FEDOSOV (M.V.), 1957 (1958). — Investigations of the chemical basis of productivity in sea basins. — *Cons. int. Explor. Mer., Rapp. et P.V.*, **144**, p. 61-64.
- FURNESTIN (M.L.), 1964. — Productivité primaire (notes à diffusion interne non publiées).
- GAILLON (B.), 1820. — Des huîtres vertes et des causes de cette coloration. — *J. phys.*, **91**.
- 1824. — Observations sur la cause de la coloration des huîtres et sur les animalcules qui servent à leur nutrition. — *Bull. Sci. nat.*, **2**, p. 312-314.

- GIGNOUX (M.), 1950. — Géologie stratigraphique. — 4^e Edit. — Paris, MASSON et Cie Edit.
- GOLDBERG (E.D.), WALKER (Th.J.) et WISENAND (A.), 1951. — Phosphate utilization by diatoms. — *Biol. Bull.*, **101**, p. 274-284.
- GRAN (H.H.), 1927. — The production of plankton in the coastal waters off Bergen. — March-April 1922. — *Rep. Norweg. fish. mar. Invest.*, **3** (8), p. 1-74.
- GRASSÉ (P.P.), 1960. — Traité de Zoologie. Mollusques (Anatomie, Systématique, Biologie), **5** (2).
- HALIM (Y) et MORCOS (S.A.), 1967. — Le rôle des particules en suspension dans l'eau du Nil en crue dans la répartition des sels nutritifs au large de ses embouchures. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Rapp. et P.V.*, **18** (3), p. 733-736.
- HARVEY (H.W.), 1934. — Measurement of phytoplankton population. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **19** (2), p. 761-773.
- 1949. — Chimie et biologie de l'eau de mer. — Paris, P.U.F., Edit.
- HERDMANN (W.A.), 1896. — The green colouration and green disease in oysters. — In MITCHELL (Ph.H.) et BARNEY (R.L.) (1918).
- HERVÉ (P.), 1935. — Les huîtres. — Marennnes, BARBAULT Edit.
- HEWITT, 1958. — Determination of carbohydrate and crude fibre with the anthrone reaction. *Nature*, **182**, p. 246. — In STRICKLAND (J.D.H.) et PARSONS (T.R.) (1960).
- HINARD (G.), 1923. — Les fonds ostréicoles de la Seudre et du Belon. — *Off. Pêches marit., notes et mém.*, n° 31.
- I.C.N.A.F., 1963. — Campagne Norwestlant 1963. — Instructions et techniques.
- JACQUES (G.), 1968. — Etude du plancton de la région de Banyuls-sur-Mer. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Rapp. et P.V.*, **19** (3), p. 557-559.
- JAVILLIER (M.), POLONOWSKI (M.), FLORKIN (M.), BOULANGER (P.), LEMOIGNE (M.), ROCHE (J.) et WURMSER (R.), 1959. — La composition chimique des organismes. — In : Traité de biochimie générale, **1** (1 et 2), Paris, MASSON et Cie, Edit.
- 1964. — Les enzymes. — *Ibid.*, **2** (2).
- JITTS (H.R.), 1959. — The adsorption of phosphate by estuarine bottom deposits. — *Austral. J. Mar. Freshw. Res.*, **10** (1), p. 7-20.
- JONES (P.G.W.), 1963. — The effect of chloroform on the soluble inorganic phosphate content of unfiltered sea water. — *J. Cons.*, **28** (1), p. 1-7.
- JONES (P.G.W.) et SPENCER (C.P.), 1963. — Comparison of several methods of determining inorganic phosphate in sea water. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **43** (1), p. 251-273.
- JOURDAIN (S.), 1893. — Sur les causes de la viridité des huîtres. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **116**, p. 408-409.
- JULIEN (A.) et RICHARD (J.G.), 1936. — Sur les modifications apportées par l'huître à la réaction du milieu extérieur. — *C.R. Soc. Biol.*, Paris, **122** (24), p. 1 108.
- KETCHUM (B.H.), CORWIN (N.) et KEEN (D.J.), 1955. — The significance of organic phosphorus determinations in ocean waters. — *Deep Sea Res.*, **2** (3), p. 172-181.
- KETCHUM (B.H.), RYTHER (J.H.), YENTSCH (Ch.S.) et CORWIN (N.), 1957 (1958). — Productivity in relation to nutrients. — *Cons. int. Explor. Mer, Rapp. et P.V.*, **144**, p. 132-140.
- KREY (J.), 1957 (1958). — Chemical methods for estimating standing crop of phytoplankton. — *Cons. int. Explor. Mer, Rapp. et P.V.*, **144**.
- LADOUCE (R.), 1953. — Utilisation des engrais en ostréiculture. — *Science et Pêche, Bull. Inform. Document. Off. Pêches marit.*, n° 9.
- LAFUSTE (J.), 1954. — Les fonds de « claires » des environs de La Rochelle. — *Cons. int. Explor. Mer, Ann. biol.*, **11**, p. 85-86.
- LAMBERT (L.), 1935. — Etudes sur la biologie des mollusques, sur leur reproduction et sur la fixation du naissain. — *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **8** (1), p. 54-61.
- LAMOTTE (M.), 1957. — Initiations aux méthodes statistiques en biologie. — Paris, MASSON et Cie, Edit.
- LE DANTEC (J.), 1968. — Ecologie et reproduction de l'huître portugaise (*Crassostrea angulata* Lmk) dans le bassin d'Arcachon et sur la rive gauche de la Gironde. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **32** (3), p. 237-362 (Thèse Univ. Fac. Sci. Bordeaux).
- MARGALEF (R.), 1960. — Valeur indicatrice de la composition des pigments du phytoplancton sur la productivité, composition taxonomique et propriétés dynamiques des populations. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Rapp. et P.V.*, **15** (2), p. 277-281.
- 1961. — Distribution du phytoplancton dans une échelle moyenne de dimensions et signification de ses pigments assimilateurs dans l'interprétation de la dynamique des configurations. — *Ibid.*, **16** (2), p. 139-140.
- 1963. — Modelos simplificados del ambiente marino para el estudio de la Sucesión y distribución del fitoplancton y del valor indicador de sus pigmentos. — *Invest. pesq.*, **23**, p. 11-52.
- MIQUEL (P.), 1892. — De la culture artificielle des diatomées. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **114**. — In RANSON (G.).
- MITCHELL (Ph.H.) et BARNEY (R.L.) 1915-16 (1918). — The occurrence in Virginia of greengilled oysters similar to those of Marennnes. — *Bull. U.S. Bur. Fish.*, **35**, p. 135-149.

- MOREAU (J.), 1967 a. — Recherches préliminaires sur le verdissement en claires, l'évolution de leurs divers pigments liée au complexe pigmentaire de *Navicula ostrearia* B. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **31** (4), p. 373-382.
- 1967 b. — La teneur en phosphates inorganiques dissous dans l'eau de mer : ses modifications périodiques dans le bassin de Marennes-Oléron et dans les claires à huîtres de la région. — *Cons. int. Explor. Mer.* (Shellfish Comm.), n° K 7.
- 1968. — Les facteurs de verdissement de l'huître en claires : le milieu hydrobiologique et benthique et ses variations. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **32** (4), p. 369-386.
- 1969 a. — Introduction aux recherches sur la présence de substances hydro-carbonées et lipo-protéiques dans les claires à huîtres et sur leur relation éventuelle avec la pigmentation de *Navicula ostrearia* B. — *Ibid.*, **33** (3), p. 333-342.
- 1969 b. — La composition hivernale des eaux des claires à huîtres en ions Mg^{++} et Ca^{++} en rapport avec la teneur en phosphore minéral. — *Cons. int. Explor. Mer.* (Shellfish Comm.), n° K 8.
- 1969 c. — La flore planctonique et benthique des claires à huîtres et l'évolution pigmentaire de *Navicula ostrearia* B. — *Ibid.* (Shellfish Comm.), n° K 9.
- 1969 d. — Le verdissement dans les claires à huîtres et l'évolution corrélative des chlorophylles a et c. — *Ibid.* (Shellfish Comm.), n° K 10.
- MOREAU et TROCHON, 1964. — Evolution en fréquence et en intensité de l'infestation des moules par *Mytilicola intestinalis* St. dans le bassin de Marennes-Oléron pour la période 1960-1963. — *Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit.*, n° 125.
- 1967. — La chlorophylle a et les caroténoïdes non-astaciens dans les claires : leurs variations quantitatives saisonnières et leurs rapports avec la croissance d'*Ostrea edulis* L. — *Cons. int. Explor. Mer.*, (Shellfish Comm.), n° K 8.
- MOREL (A.), 1963. — Au sujet du dosage colorimétrique de l'oxygène dissous. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Rapp. et P.V.*, **17** (3), p. 909-912.
- 1965. — Mise au point d'une méthode spectrophotométrique pour le dosage de l'oxygène dissous dans les eaux de mer. — *Bull. Inst. océanogr.*, Monaco, **64**, n° 1 332, 31 p.
- MORICE (E.) et coll. 1947. — Méthodes statistiques en médecine et en biologie. — Paris, MASSON et Cie, Edit.
- MURPHY (J.) et RILEY (J.P.), 1962. — A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. — *Anal. chim. Acta*, **27** (1), p. 31-36.
- PARSONS (T.R.), 1961. — On the pigment composition of eleven species of marine phytoplankters. — *J. fish Res. Bd Canada*, **18** (6), p. 1 017-1 025.
- 1963. — A new method of the microdetermination of chlorophyll c in sea water. — *J. Mar. Res.*, **21** (3), p. 164-171.
- PARSONS (T.R.), STEPHENS (K.) et STRICKLAND (J.D.H.), 1961. — On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. — *J. fish. Res. Bd Canada*, **18** (6), p. 1 001-1 016.
- PARSONS (T.R.) et STRICKLAND (J.D.H.), 1963. — Discussion of spectrophotometric determination of marine plant pigments with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. — *J. Mar. Res.*, **21** (3), p. 155-164.
- PATE (J.B.) et ROBINSON (R.J.), 1961. — The (ethylene dinitrilo) tetracetate titration of calcium and magnesium in ocean waters. — II - Determination of magnesium. — *J. Mar. Res.*, **19** (1), p. 12-20.
- PATTEN (B.C.), NORCROSS (J.J.), YOUNG (D.K.) et RUTHERFORD (Ch.L.), 1964. — Some experimental characteristics of dark and light bottles. — *J. Cons.*, **28** (3), p. 335-353.
- PÉRÈS (J.M.) et DEVÈZE (L.), 1963. — Océanographie biologique et biologie marine. — II La vie pélagique. — Paris, P.U.F.
- PERCIER (A.), 1967. — Cours d'océanographie et de technique des pêches. — *Centre Et. Rech. sci., Biarritz*.
- PORA (A.E.), 1960. — L'homéorapie, une notion à préciser dans la physiologie écologique des animaux aquatiques. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Rapp. et P.V.*, **15** (3), p. 171-188.
- RABINOWITCH (E.I.), 1945. — Photosynthesis. — *Intersci. public.*, New York.
- RANSON (G.), 1925. — Le verdissement des huîtres. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **180**.
- 1926. — Les « termites » (*Corophium volutator* PALLAS) de certains fonds ostréicoles de la région de Marennes. — *C.R. Congr. Soc. sav.*, p. 413-418.
- 1927 a. — Observations sur *Navicula ostrearia* BORY, origine du verdissement des huîtres. — *Rev. algol.*, **3**.
- 1927 b. — L'absorption de matières organiques dissoutes par la surface extérieure du corps chez les animaux aquatiques. — *Ann. Inst. océanogr.*, **4** (3), p. 49-174.
- 1935 a. — Le déterminisme de la fixation saisonnière de *Navicula fusiformis* GRÜN (*N. ostrearia* BORY). Sa culture expérimentale en ostréiculture. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **101**, p. 684-687.
- 1935 b. — Le rôle de la matière organique dissoute dans l'eau et les théories de Pütter. — *Bull. Mus. nat. Hist. nat.*, 2° sér., **7**, p. 359-366.
- 1936 a. — Nouvelles observations concernant la biologie de *Navicula fusiformis* GRÜN (*N. ostrearia* B.). — *Ibid.*, 2° sér., **8**, p. 355-361.
- 1936 b. — Le rôle de la matière organique dissoute dans l'eau et les théories de Pütter. — *Ibid.*, 2° sér., **8**, p. 160-172.

- RANSON (G.), 1937. — Sur la soi-disant existence de plusieurs diatomées bleues dans la nature. — *Rev. algol.*, **8**.
- 1943. — La vie des huîtres. — Paris, GALLIMARD Edit.
- 1952. — Les huîtres. Biologie. Culture. Bibliographie. — *Bull. Inst. océanogr.*, **49**, n° 1 001.
- 1968. — Les huîtres. Biologie. Culture. Bibliographie. — *Ibid.*, **67**, n° 1 388.
- RAY-LANKESTER (E.), 1886. — On green oysters. — *Quart. J. microscopical Science*, **26**, p. 71-94. In MITCHELL (Ph.H.) et BARNEY (R.L.).
- RICHARDS (F.A.), 1952. — The estimation and characterization of plankton populations by pigment analyses. I. The absorption spectra of some pigments occurring in diatoms, dinoflagellates, and brown algae. — *J. Mar. Res.*, **11** (2), p. 147-155.
- RICHARDS (F.A.) et THOMPSON (T.G.), 1952. — The estimation and characterization of plankton populations by pigment analyses. II. A spectrophotometric method for the estimation of plankton pigments. — *J. Mar. Res.*, **11**, p. 156-172.
- ROBINSON (R.J.) et THOMPSON (T.G.), 1948. — The determination of phosphates in sea water. — *J. Mar. Res.*, **7** (1), p. 33-41.
- ROCHFORD (D.J.), 1951. — Studies in Australian estuarine hydrology. — *Austral. J. Mar. freshw. Res.*, **2** (1), p. 1-116.
- ROTSCHI (H.), 1960. — Sur la détermination colorimétrique du phosphate. — *Cah. océanogr. C.O.E.C.*, n° 7, p. 470-482.
- 1963. — La détermination de l'oxygène dissous par la méthode de Winckler. Une évaluation statistique des différentes sources d'erreurs. — *Ibid.*, n° 7.
- SAUVAGEAU (C.), 1907 a. — Sur le verdissement expérimental des huîtres. — *C.R. Séances Soc. Biol.*, **62**, p. 919-921.
- 1907 b. — Le verdissement des huîtres par la diatomée bleue. — *Trav. Soc. sci. Stat. Zool. Arcachon*, **10**.
- SCOR-UNESCO, 1964. — Report of Scor-Unesco working group 17 on : Determination of photosynthetic pigments, Sydney.
- 1966. — Determination of photosynthetic pigments in sea water (monograph on oceanographic methodology). — Unesco, Paris.
- SOSA (A. DE), 1954. — La détermination rapide du calcium et du magnésium dans l'eau de mer. — *Anal. chim. Acta*, **11**, p. 221-224.
- SPENCER (C.P.), 1964. — The estimation of phytoplankton pigments. — *J. Cons. int. Explor. Mer.*, **28** (3), p. 327-334.
- SPRAT (T.), 1669. — The history of the generation and ordering of green oysters, commonly called colchester oysters. — *Hist. roy. Soc.*, London (édition en français, Genève 1669). — In Copie ancienne, Bibliothèque municipale, La Rochelle.
- STEEMANN-NIELSEN (E.), 1952. — Use of radio-active carbon (C 14) for measuring organic production in the sea. — *J. Cons.*, **18**, p. 117-140.
- 1957 (1958). — Experimental methods for measuring organic production in the sea. — *Cons. int. Explor. Mer Rapp. et P.V.*, **144** : 38-46.
- STRICKLAND (J.D.H.), 1960. — Measuring the production of marine phytoplankton. — *J. Fish. Res. Bd Canada*, n° 122.
- STRICKLAND (J.D.H.) et PARSONS (T.R.), 1960. — A manual of sea water analysis. — *J. Fish. Res. Bd Canada*, n° 125 (et 2^e édition révisée : 1965).
- 1968. — A practical hand-book of sea-water analysis. — *Ibid.*, n° 167.
- SULLIVAN (W.K.), 1870. — Composition of the soils of oyster grounds. — *App. Rep. Comm., App. method. oysters cult.*, p. 166-176. In MITCHELL (Ph.H.) et BARNEY (R.L.).
- SVERDRUP (H.V.), JOHNSON (M.W.) et FLEMING (R.M.), 1952. — The oceans. — New York, Prentice Hall.
- SZABO (B.J.), 1967. — Determination of calcium and magnesium by (ethylenedinitrilo) tetra acetic acid titration. — *Bull. Mar. Sci.*, **17** (3), p. 544-550.
- THOMSEN (H.), 1948. — Instructions pratiques sur la détermination de la salinité de l'eau de mer par la méthode de titrage Mohr-Knudsen. — *Bull. Inst. Océanogr.*, n° 930.
- TROCHON (P.), 1960. — Croissance des huîtres plates en claire et conditions hydrologiques. — *Cons. int. Explor. Mer (Shellfish. comm.)*, n° 29.
- TROCHON (P.) et MOREAU (J.), 1963. — Contribution à l'étude de la croissance de l'huître plate *Ostrea edulis* L. en claire. — *Cons. int. Explor. Mer (Shellfish. comm.)*, n° 45.
- TROTTI (L.) et SACKS (D.), 1961. — A photometric modification of the winkler method. — *Comm. int. Explor. sci. Mer. Médit., Rapp. et P.V.*, **16** (3), p. 673.
- VALENCIENNES (A.), 1841. — Sur les causes de la coloration en vert de certaines huîtres. — *C.R. Acad. Sci.*, **12**, p. 345-346.
- WINBERG (G.C.), 1957 (1958). — Quelques questions concernant les méthodes de l'investigation de la production primaire du plancton, basée sur des travaux exécutés en U.R.S.S. — *Cons. int. Explor. Mer, Rapp. et P.V.*, **144**, p. 65-69.

Vu et permis d'imprimer :

Nantes, le 30 octobre 1970

**Le Président du Conseil transitoire de Gestion
chargé des fonctions de Doyen**

Signé : P. AVIGNON

